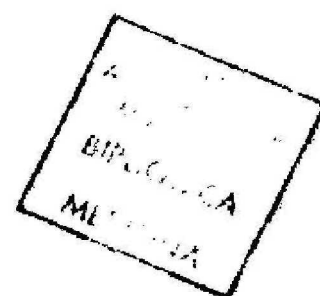


4
12 518
2239

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA**

HIPERHOMOCISTEINEMIA Y PREECLAMPSIA

Tesis Doctoral



MARÍA DE LA CALLE FERNÁNDEZ-MIRANDA

Madrid, 2000

Ref. F.M. 20361

**Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Ginecología y Obstetricia**

HIPERHOMOCISTEINEMIA Y PREECLAMPSIA

Trabajo para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Doctorando:

MARÍA DE LA CALLE FERNÁNDEZ-MIRANDA

Madrid, 2000

DEDICATORIA:

A mis padres, por toda una vida

A Luis, por tanto amor.

AGRADECIMIENTOS:

A los directores de esta Tesis: Al profesor **Dr. Antonio González González**, al que debo, además de su apoyo y estímulo en la realización de esta tesis, sus consejos, tanto en el mundo de la Obstetricia como fundamentalmente en el mundo de la vida. A la profesora **Dra. Consuelo Fernández-Miranda Parra**, por su constante empeño en ver esta tesis realizada, por sus incansables palabras de ánimo y aliento, por todos los momentos de escucha, por toda una vida de entrega.

Al **Profesor Dr. José Antonio Usandizaga**, modelo a seguir como ginecólogo y obstetra, y a quien he tenido la satisfacción de conocer y admirar como Jefe de Departamento en mis años de formación como residente en Obstetricia y Ginecología en el Hospital "La Paz".

Al **Profesor Juan Ordás**, por todas sus enseñanzas.

Al **Dr. Ramón Usandizaga**, tutor durante mi residencia, por sus enseñanzas, sus escuchas y su inmensa dedicación en mi aprendizaje.

Al Dr. Eduardo Cabrillo, por haberme transmitido el lado humano de la Obstetricia, por su entrega con las pacientes, por todas las horas dedicadas para que llegase a conocer lo esencial de la vida, por tantos momentos de felicidad durante mi Residencia

Al Dr. Fernando Magdaleno Dans, por todas las preeclampsias compartidas, por todos los momentos entrañables vividos junto a él en el hospital, que me hicieron valorar las cosas importantes de este mundo.

Al Dr. Javier Santisteban, por su gran sencillez y bondad en el trabajo, por su gran talento en la laparoscopia, por tantas horas compartidas y vividas

A la Dra. Marta Sancha, gran ginecóloga, por su enorme humanidad, por su ternura, por su risa contagiosa y por todas sus palabras inolvidables en momentos importantes de mi vida

A los doctores Luis Fernández-Sanguino, Antonio Pérez Piñar, Roberto Rodríguez, Carmen Cuadrado, Purificación Mayor Oreja y Ernesto Alvarez Charines, porque todos ellos han dejado una huella imborrable en mis años de residencia.

Al Dr. Angel Herranz, del Servicio de Bioquímica del Hospital La Paz, por las determinaciones de homocisteína, y sus consejos a la hora de analizar los resultados y obtener conclusiones válidas.

Al Servicio de Epidemiología del Hospital La Paz, por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

A todas y todos los residentes con los que he compartido durante cuatro años guardias, quirófanos, amaneceres, sesiones, lágrimas y un puñado de recuerdos

A **Marcos Dagama**, por todas las horas empleadas en realizar y corregir los gráficos de esta Tesis. Por su amistad de tantos años.

A mis hermanos, **Pablo** y **Katia**, testigos permanentes de mi carrera y mi trabajo, por su gran comprensión y apoyo.

A mis abuelos, por haberme transmitido siempre pensamientos positivos en la vida y por su confianza constante en mi profesión.

A mis íntimos amigos, con los que he compartido de alguna manera esta Tesis, alentándome, escuchándome, animándome y regalándome toda su amistad: **Maria José**, **Susana**, **Chusa**, **Rosa**, **Ana**, **Rubén**, **Irene**, **Eva**, **Iñaki**, **Robert**, **Ricardo**, **Cristina** y **Laura**

A todas y todos los residentes con los que he compartido durante cuatro años guardias, quirófanos, amaneceres, sesiones, lágrimas y un puñado de recuerdos.

A Marcos Dagama, por todas las horas empleadas en realizar y corregir los gráficos de esta Tesis. Por su amistad de tantos años.

A mis hermanos, Pablo y Katia, testigos permanentes de mi carrera y mi trabajo, por su gran comprensión y apoyo.

A mis abuelos, por haberme transmitido siempre pensamientos positivos en la vida y por su confianza constante en mi profesión.

A mis íntimos amigos, con los que he compartido de alguna manera esta Tesis, alentándome, escuchándome, animándome y regalándome toda su amistad: María José, Susana, Chusa, Rosa, Ana, Rubén, Irene, Eva, Maqui, Robert, Ricardo, Cristina y Laura..

"Pero la verdad en medicina no está sólo detrás del experimento, sino también detrás de la simple y fecunda observación" (G. Marañón: " La Medicina y Nuestro Tiempo", 1963)

" Como si de una iluminación se tratase, se apoderaba de las embarazadas, haciéndolas a algunas convulsionar, y desapareciendo tras el parto" (Celso, siglo I d.C.)

" Durante el periodo gravídico, se produce en el útero una cantidad enorme de productos de regresión, de sinciotoxinas, que en los casos ordinarios se eliminan de los principales órganos emunctorios, pero cuando estos venenos se producen en cantidad excesiva, una parte de ellos permanece en el interior del organismo materno y produce en él los efectos de tal envenenamiento" (C. Cassioli "El obstétrico práctico ", 1907).

ABREVIATURAS

ACVA: Accidente cerebrovascular agudo

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Apo(a): Apoproteína (a)

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: Mensajero del ácido ribonucleico

BHMT: Betaína homocisteína metiltransferasa

Cbl: Cobalamina

CβS: Cistationina β sintasa

EDTA: Etilendiamina tetra-acetato

GOT: Transaminasas glutámico-oxalacéticas

Hcy: Homocisteína

HDL: Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (high density lipoprotein)

HELLP: Hemólisis, aumento de enzimas hepáticas y disminución de plaquetas (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets)

HIG: Hipertensión inducida por la gestación

HLA: Antígeno de histocompatibilidad

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

Ig: Inmunoglobulina

IL: Interleucina

IMC: Índice de masa corporal

ISSHP: International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy

LDH: Enzima láctico deshidrogenasa

LDL: Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (low density lipoprotein)

Lp(a): Lipoproteína (a)

MS: Metionina sintasa

MTHFR: Metileno tetrahidrofolato reductasa

NADPH: Hidrógeno unido a fosfato de dinucleótido de adenina y nicotinamida

SAM: S- adenosilmetionina

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

SER: Senna

TAD: Tensión arterial diastólica

TFN: Factor de necrosis tumoral (Tumoral factor of necrosis)

THF: Tetrahidrofolato

VHB: Virus de la hepatitis B

VHC: Virus de la hepatitis C

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VLDL: Colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (very low density lipoproteins)

INDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN	11
1.-Homocisteína	12
1.1 Concepto	12
1.2 Metabolismo de la homocisteína	12
1.2.1 Enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína	16
1.2.2 Formas moleculares de homocisteína en plasma	20
1.3 Hiperhomocisteinemia Concepto	20
1.4 Causas de hiperhomocisteinemia	22
1.4.1 Causas hereditarias	22
1.4.2 Causas adquiridas	27
1.5 Hiperhomocisteinemia como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular	31
1.6 Mecanismo de acción de la homocisteína implicado en la enfermedad coronaria	36
1.6.1 Efecto aterogénico	36
1.6.2 Efecto trombogénico	39
2.-Preeclampsia	42
2.1-Concepto de preeclampsia	42
2.2 Epidemiología de la preeclampsia	47
2.2-Bases fisiopatológicas de las manifestaciones clínicas	48
2.3-Etiopatogenia de la preeclampsia	56

3.-Hiperhomocisteinemia y Preeclampsia	64
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	67
III. OBJETIVOS	70
IV. PACIENTES Y MÉTODOS	72
1. Pacientes y ámbito de estudio	73
2. Variables estudiadas	73
3. Definición de variables dependientes	74
4. Criterios de inclusión	75
5. Criterios de exclusión	75
6. Análisis estadístico	75
7. Aspectos éticos	76
V. RESULTADOS	77
1.Características clínicas	78
2. Características bioquímicas	79
VI. ICONOGRAFÍA	88
VII. DISCUSIÓN	116
VIII. CONCLUSIONES	125
IX. BIBLIOGRAFÍA	128

I.-INTRODUCCION

I.-INTRODUCCION

1.-HOMOCISTEÍNA

1.1 CONCEPTO

La homocisteína es un aminoácido que procede de la metionina. La única fuente de homocisteína en el cuerpo humano proviene de la metionina de las proteínas dietéticas. La metionina es un aminoácido esencial presente en todas las proteínas, que precisa el hombre para el adecuado crecimiento de todas las células y tejidos del cuerpo.

Las proteínas dietéticas difieren en la cantidad de metionina que proporcionan. Las proteínas de fuentes animales, como la carne, los huevos o la leche, son ricas en metionina. Las proteínas de origen vegetal como los cereales, las legumbres, las frutas o las verduras, presentan un menor aporte de metionina y contienen sólo entre un tercio a la mitad de la cantidad de metionina encontrada en las proteínas de origen animal.

1.2 METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA

El exceso de metionina procedente de la dieta o del recambio de las proteínas endógenas que no se incorpora a las proteínas es metabolizado según se describe en la Figura 1. La metionina es transformada en homocisteína mediante dos reacciones sucesivas. En la primera, se produce un metabolito intermediario, la S-adenosilmetionina o "metionina activa" (SAM), mediante una reacción catalizada por la enzima L-metionina adenosiltransferasa. La SAM aporta grupos metilos en la biosíntesis de la colina, creatinina, adrenalina, melatonina, sarcosina y también participa en la metilación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). En la segunda reacción, la SAM es desmetilizada y se transforma en S-adenosilhomocisteína (SAH), que luego es hidrolizada a homocisteína y adenosina por la enzima S-adenosilhomocisteína hidrolasa. Esta reacción es la única fuente de homocisteína en los vertebrados.

Una vez formada la homocisteína, su metabolismo se bifurca en dos rutas metabólicas: la *transulfuración* y la *remetilación*. En la ruta de la *transulfuración*, la homocisteína se transforma en cisteína mediante dos reacciones dependientes de la vitamina B6 (piridoxina): la primera transforma homocisteína en cistationina mediante la enzima cistationina- β -sintasa (CBS); y en la segunda reacción, la cistationina γ -liasa cataliza la formación de cisteína y α -cetobutirato a partir de la cistationina (1) (Figura 2).

En la ruta de la *remetilación*, la homocisteína se metila para formar metionina mediante dos rutas metabólicas independientes. En la primera ruta metabólica participa la enzima 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína S-metiltransferasa (metionina sintasa) y se encuentra en la mayoría de las estirpes celulares, requiriendo ácido 5-metiltetrahidrofólico como cosustrato y metilcobalamina como coenzima. La segunda es catalizada por la enzima

betaína: homocisteína metiltransferasa utilizando betaína como fuente de grupos metilo y realizándose en el hígado, los riñones y en menor proporción en las glándulas suprarrenales (2). En humanos, aproximadamente el 50% de la homocisteína es convertida en metionina mediante la ruta de la *remetilación* (Figura 3).

La ruta de la *remetilación* en la que participa la metionina sintasa es muy importante en el metabolismo del ácido fólico, ya que permite que el ácido tetrahidrofólico desmetilado ingrese en el depósito intracelular del ácido fólico reducido, contribuyendo a la síntesis de purinas y pirimidinas que posteriormente sintetizarán el ADN y favorecerán la proliferación celular. Una alteración en esta reacción, probablemente secuestre el ácido fólico en forma de ácido 5-metiltetrahidrofólico para la síntesis de ADN. Esta perturbación en la homeostasis del ácido fólico se observa en la deficiencia de cobalamina y suele conocerse como la trampa del ácido fólico (2).

Las alteraciones genéticas o nutricionales que comprometen la formación de la coenzima metilcobalamina y del ácido 5-metiltetrahidrofólico, inducen una deficiencia funcional de metionina sintasa y una disminución de la ruta de la *remetilación* produciendo un incremento en los niveles de homocisteína (2, 3). Es decir, una disminución en los niveles plasmáticos de ácido fólico, generalmente causados por un déficit nutricional o un aumento del consumo del mismo por parte del organismo, conducen a una hiperhomocisteinemia.

La concentración plasmática de metionina determina si la homocisteína seguirá la ruta de la *transulfuración* o la de la *remetilación*. Cuando la metionina se encuentra aumentada, hay un incremento de la ruta de la *transulfuración* y una disminución de la tasa de *remetilación* de la homocisteína. Esto es debido al control metabólico que ejerce el aumento tisular de la concentración de SAM, el cual simultáneamente activa la CBS e inhibe la enzima

metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) hepática (4). Por tanto, en estas condiciones hay un aumento de la síntesis de cistationina y una disminución en la formación de ácido 5-metiltetrahidrofólico. A largo plazo, disminuye la síntesis de las enzimas que intervienen en la remetilación y se incrementa la CBS. Cuando disminuye la concentración de metionina en la sangre, la concentración de los metabolitos y la actividad de las enzimas cambian en dirección opuesta. Este mecanismo de regulación asegura una conservación eficiente de metionina a través de la remetilación (4).

Cuando se aumenta la síntesis de homocisteína o se inhibe su catabolismo, aumenta la exportación hacia el espacio extracelular. La tasa de exportación refleja el balance entre la síntesis y la utilización. Por esta razón, la concentración extracelular de homocisteína, y en particular la del plasma, son indicadores de la actividad de las enzimas y de la disponibilidad de coenzimas y sustratos involucrados en su metabolismo (4). La vida media de la homocisteína total en la sangre oscila entre 12 y 24 horas.

Las concentraciones de homocisteína basal son muy sensibles a la deficiencia subclínica o moderada de ácido fólico o de vitamina B12. La severidad de la hiperhomocisteinemia basal está muy relacionada con el grado de la deficiencia de ácido fólico y vitamina B12. Por eso, la determinación de homocisteína basal debe realizarse junto con las concentraciones de ácido fólico y vitamina B12 para precisarse el origen de la hiperhomocisteinemia. Incluso en las situaciones en las que los niveles de ácido fólico están ligeramente disminuidos (deficiencia subclínica), las probabilidades de desarrollar hiperhomocisteinemia son muy altas.

1.2.1.-ENZIMAS INVOLUCRADAS EN EL METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA

La Tabla 1 muestra las principales enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína, las coenzimas empleadas en cada reacción y el control metabólico que ejercen ciertos intermediarios en su metabolismo.

TABLA 1.- ENZIMAS Y COENZIMAS DEL METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA

ENZIMA	COENZIMA	REACCIÓN	EFFECTORES
CβS	5-fosfato de piridoxal	Hcy+Ser→cistationina	(+) SAM
MS	CH ₃ -THF y CH ₃ Cl	RCH ₃ +Hcy→metionina	(-) Oxido nitroso
MTHFR	NADPH	CH ₂ THF→CH ₃ -THF	(-) SAM
BHMT	Betaína	Betaína+Hcy→metionina	(-) SAM (-) metionina (-)N,N-dimetilglicina

CβS: Cistationina-β-sintasa, MS: Metionina sintasa, MTHFR: Metilenotetrahidrofolato reductasa, BHMT: Betaína: homocisteína metiltransferasa, Hcy : Homocisteína, Ser: serina

SAM: S- adenosilmetionina, (+): activador, (-): inhibidor.

A.-CISTATIONINA- β -SINTASA (C β S) (L-SERINA HIDROLIASA)

El gen que codifica este enzima se localiza en la región subtelomérica del cromosoma 21, 21q23 y está constituido por 2554 nucleótidos. Este gen codifica para un monómero de 75 kDa formado por 551 aminoácidos (4). La forma enzimática que predomina es la de un tetrámero al que se une estrechamente el 5-fosfato de piridoxal, la forma activa de la vitamina B6, de la cual depende su actividad. La enzima liga dos substratos, homocisteína y serina, y tres ligandos adicionales: fosfato de piridoxal, SAM y un grupo hemo (Figura 2). El grupo hemo se incorpora al enzima durante el proceso de plegamiento de la proteína para formar una hemoproteína, y se requiere para la unión del 5-fosfato de piridoxal a la enzima. Un defecto que comprometa la unión del grupo hemo podría afectar la unión del 5-fosfato de piridoxal a la enzima (5). En condiciones fisiológicas, el equilibrio de la reacción de condensación de la homocisteína y la serina se desplaza hacia la formación de cistationina. Esta reacción permite eliminar compuestos azufrados del ciclo homocisteína-metionina.

B.-METIONINA SINTASA (ÁCIDO 5-METILTETRAHIDROFOLATO-HOMOCISTEÍNA S-METILTRANSFERASA)

Es una enzima citoplasmática que cataliza la transferencia del grupo metilo desde el ácido 5-metiltetrahidrofólico a la homocisteína para formar metionina (Figura 3). Esta reacción regenera el ácido tetrahidrofólico para el transporte de nuevas unidades de formilo, metileno y metilo para la síntesis de purinas y pirimidinas. El gen que codifica para esta enzima se localiza en el cromosoma 1 q42.3-43 (5). Esta región codifica para una proteína de 1265 aminoácidos con un peso molecular de 140,3 kDa. En humanos adultos se encuentra en

mayor proporción en el corazón, páncreas, músculo esquelético y placenta, y en menor proporción en el hígado, pulmón, cerebro y riñón.

Según estudios realizados en bacterias, se sabe que el grupo metilo del ácido 5-metiltetrahidrofólico en realidad es transferido primero a la cob(I)alamina y finalmente a la homocisteína para formar metionina, al tiempo que se regenera la cobalamina para un nuevo ciclo de homocisteína-metionina (1). La cob(I)alamina ligada a la enzima después de participar en esta reacción un cierto número de veces, se oxida a cob(II)alamina o a cob(III)alamina. Su regeneración a cob(I)alamina requiere de un sistema reductor y de SAM. También se oxida a cob(II)alamina en presencia de óxido nítrico, con formación de nitrógeno y de un radical hidroxilo o su equivalente, capaz de modificar sitios próximos a la cobalamina. Este último inhibe irreversiblemente la enzima metionina sintasa e induce la pérdida de este grupo prostético (cob(I)alamina).

C.-METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA (MTHFR)

Es una flavoproteína citoplasmática de un peso molecular de 150 kDa, probablemente compuesta de un homodímero de 75 kDa cada uno y que requiere de NADPH como dador de electrones (6). El gen que codifica para esta proteína está localizado en el cromosoma 1p36.3 (6).

La MTHFR cataliza la reducción del ácido 5,10-metilenotetrahidrofólico a ácido 5-metiltetrahidrofólico (Figura 4). En condiciones fisiológicas esta reacción es irreversible y su actividad está regulada por la concentración de SAM. La deficiencia hereditaria de MTHFR es una de las causas de homocistinuria, aunque en general menos severa que la observada en la deficiencia de la CBS (homocistinuria clásica).

La acción combinada de la MTHFR y la metionina sintasa suministra unidades de carbono para las reacciones de metilación, en las cuales el SAM es el dador final.

D.-BETÁINA: HOMOCISTEÍNA METILTRANSFERASA

La betaina se encuentra en la fracción citosólica del riñón y del hígado de humanos y de cerdos, y en el hígado de ratas. La forma nativa de esta enzima, tanto en humanos como en ratas, es una proteína de 270 kDa, constituida por seis subunidades idénticas de 406 aminoácidos (7). La betaina cataliza la metilación de la homocisteína para formar metionina (Figura 5). En esta reacción, la betaina (N,N,N-trimetilglicina) proveniente de la oxidación de la colina aporta el grupo metilo. La betaina: homocisteína metiltransferasa es inhibida reversiblemente por los productos de la reacción, metionina y N,N-metilglicina y por la SAM.

La actividad de la betaina: homocisteína metiltransferasa depende de factores nutricionales y de la edad. Generalmente esta enzima es entre 5 y 10 veces más activa que la metionina sintasa y presenta dos veces más afinidad por la homocisteína que la CBS (4). La expresión de la betaina: homocisteína metiltransferasa se incrementa cuando la dieta se suplementa con colina o betaina, o con la utilización de una dieta con un contenido bajo o alto en metionina. El aumento de la actividad de la betaina: homocisteína metiltransferasa en ambos extremos del espectro de la ingesta de metionina, indica que la reacción catalizada por esta enzima permite mantener las concentraciones de metionina en sangre cuando la ingesta de este aminoácido es limitada y eliminar la homocisteína cuando la ingesta de metionina es excesiva. Esta reacción es, además, fundamental en el catabolismo de la colina.

1.2.2.-FORMAS MOLECULARES DE HOMOCISTEÍNA EN PLASMA

El 70% de la homocisteína plasmática está ligada a las proteínas, principalmente a la albúmina, mediante puentes disulfuro. A esta fracción se denomina "homocisteína ligada a proteínas". En la Figura 6 se muestra la estructura de la homocisteína en sus diferentes formas moleculares. El 30% de homocisteína restante se conoce como homocisteína libre y está formada por dímeros de homocisteína-cisteína y homocisteína-homocisteína (homocistina), en ambos casos unidos por puentes disulfuro, y por monómeros de homocisteína. La suma de todas las formas plasmáticas de homocisteína se denomina "homocisteína total" (a veces citada como homocist(e)ína), y su determinación es la que resulta de interés como factor de riesgo cardiovascular, ya que la concentración de homocisteína libre es muy variable, dependiendo de diferentes circunstancias fisiológicas y preanalíticas.

1.3 HIPERHOMOCISTEINEMIA: CONCEPTO

Las concentraciones plasmáticas de homocisteína que se consideran "normales" en términos estadísticos varían entre diferentes países, y también entre los distintos laboratorios. Algunos factores responsables de esta variación son las diferencias en los métodos analíticos y las características de los controles seleccionados. Las variaciones interindividuales están influidas, entre otros factores, por el tipo de dieta, la edad, el sexo, la ingestión de medicamentos, así como por las concentraciones séricas y tisulares de ácido fólico y vitamina B12. Se considera generalmente "hiperhomocisteinemia" a las concentraciones plasmáticas de homocisteína basal, y/o a los incrementos post-metionina superiores a la media más dos desviaciones estándar de los controles, o superiores al percentil 90 ó 95% de los mismos.

El test post-metionina consiste en suministrar, previo ayuno de al menos doce horas, una dosis oral de 100 mg de L-metionina/Kg de peso ó 3,8 g/m² de superficie corporal, que son dosis equivalentes. Se administra generalmente disuelto en zumo de naranja. La determinación de homocisteína plasmática se realiza en el plasma obtenido en uno o más puntos entre 2 y 8 horas después de la ingesta de la metionina (8). El interés de esta prueba radica en que suelen detectarse heterocigotos para la deficiencia de la CBS y déficits de vitamina B6, que en cambio pueden presentar concentraciones de homocisteína basal indistinguibles de las de los controles.

La mayor parte de los estudios que han determinado concentraciones plasmáticas de homocisteína total en especímenes extraídos en ayunas oscilan entre 5,0 y 16,0 µmol/L. En diversos estudios realizados en nuestro país, en personas sanas con una media de edad de 50±9,8 años, la concentración basal de homocisteína es de 7,3 ± 2,0 µmol/L (9, 10, 11).

La concentración de homocisteína total en el plasma tras 6 horas después de la sobrecarga con metionina, es, según diversos estudios realizados en nuestro país de 18,7 ± 6,1 µmol/L de homocisteína total (9, 11).

1.4.-CAUSAS DE HIPERHOMOCISTEINEMIA

1.4.1.-CAUSAS HEREDITARIAS

En la Tabla 2 se describen las causas de hiperhomocisteinemia de origen hereditario, las cuales se detallan a continuación.

TABLA 2.- CAUSAS HEREDITARIAS DE HIPERHOMOCISTEINEMIA

DEFECTO	PROCESO AFECTADO	METABOLITOS ALTERADOS
CBS	Hcy→ cistationina	↑ Hcy y ↑ metionina
MTHFR	Metileno→ THF metil THF	↑ Hcy y ↓ metionina
MTHFR termolábil	MetilenoTHF → metil THF	↑ Hcy ↓ Ácido fólico
Factor Intrínseco	Absorción de la vitamina B12	↑ Hcy ↓ vitamina B12
Transcobalamina II	Transporte de la vitamina B12	↑ Hcy ↓ vitamina B12
Cbl C y D	Cbl (III) → Cbl (II)	
Cbl F	Salida Cbl de los lisosomas	
Cbl E y G	Hcy → metionina	

CBS: cistationina β-sintasa; **Cbl:** cobalamina; **Hcy:** homocisteína; **MTHFR:** metilenotetrahidrofolato reductasa; **THF:** tetrahidrofolato

DEFICIENCIA DE CISTATIONINA- β -SINTASA (CBS)

La deficiencia de esta enzima es la causa más frecuente de homocistinuria y se suele denominar "homocistinuria clásica". Se hereda de forma autosómica recesiva (4). Se presenta con una incidencia de 1 por cada 334.000 nacimientos, aunque en algunas regiones como Nueva Gales o Irlanda la incidencia es mucho mayor, llegando a 1/60.000 y 1/10.000 respectivamente (4). La clínica de la homocistinuria clásica cursa con retraso mental, luxación del cristalino, alteraciones esqueléticas y enfermedad vascular prematura, especialmente el tromboembolismo pulmonar, que hace peligrar la vida de estos pacientes desde una edad muy temprana (4).

La característica bioquímica más sobresaliente en esta enfermedad es la importante elevación de la concentración plasmática de homocisteína (50 a 100 veces mayor que la de los controles) y la marcada excreción urinaria de homocisteína (20 a 100 veces mayor que la de los controles). La severidad de la enfermedad está en relación directa con la concentración de homocisteína en sangre.

La heterogeneidad genética de esta deficiencia se relaciona con la actividad residual de la enzima, así como con su diferente afinidad por la serina y el 5-fosfato de piridoxal. La mayor parte de las mutaciones del gen que codifica para la CBS se localiza entre los exones 2 y 12, afectando de forma principal al 3 y al 8. La frecuencia de estas mutaciones varía según las etnias o los países. La respuesta al tratamiento con vitamina B6 depende del tipo de mutación, y se correlaciona con la actividad residual de la enzima medida antes de suministrar el tratamiento vitamínico (4).

ALTERACIONES DE LA REMETILACIÓN

En las alteraciones de la remetilación puede existir un defecto de la enzima betafna:homocisteína metiltransferasa, o bien un defecto de la coenzima metilcobalamina. En la Tabla 2 se resumen los defectos genéticos que afectan la remetilación de la homocisteína en la vía metabólica donde convergen la vitamina B12 y el ácido fólico.

ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DEL ÁCIDO FÓLICO

Dentro de las alteraciones en el metabolismo del ácido fólico, existen dos formas muy diferentes por su distinta gravedad. La primera es la deficiencia severa de la enzima MTHFR, muy poco frecuente y que causa una elevación muy marcada de la concentración de homocisteína. La segunda es la deficiencia leve o moderada de la enzima MTHFR, que causa una hiperhomocisteinemia moderada y está presente entre 10 y 15% de la población general.

De cualquier forma, la hiperhomocisteinemia causada por la deficiencia de la MTHFR suele ser menos severa que la presente en la homocistinuria clásica. Sin embargo, las alteraciones neurológicas, incluyendo las convulsiones, la neuropatía periférica, las alteraciones psiquiátricas y el retraso mental, son de más rápida evolución que en la homocistinuria clásica. El examen postmortem de los individuos afectados revela trombosis e infartos en las arterias cerebrales, coronarias o renales, semejantes a los observados en los sujetos con deficiencia de CβS. Probablemente ésta es la mayor causa de muerte en estos pacientes. La severidad de las manifestaciones clínicas son paralelas al grado de deficiencia enzimática.

Entre los hallazgos bioquímicos en estos pacientes destaca el aumento de homocisteína en sangre y orina, así como la disminución de la concentración de metionina en sangre. Esto último los diferencia de los pacientes con homocistinuria clásica.

Los estudios *in vitro* de estabilidad térmica demuestran que la enzima MTHFR presenta una variante con una sensibilidad térmica (46°C) que la diferencia claramente de la enzima presente en la mayoría de la población y de la enzima de pacientes con deficiencia severa. A esta variante se le suele denominar "MTHFR termolábil". El defecto molecular en esta variante se produce por una sustitución de una citosina por una timina en el nucleótido 677 del gen, lo que origina un cambio de alanina por valina (12). Esta variante es muy frecuente en la población general presentándose con un 15% de prevalencia. La actividad medida en extracto de linfocitos de homocigotos para la variante termolábil es el 50% de la actividad de los controles. La actividad enzimática disminuida de esta variante, incrementa la susceptibilidad a desarrollar hiperhomocisteinemia moderada, especialmente en individuos con concentración sérica de ácido fólico en el límite bajo de la normalidad, aunque no lleguen a padecer deficiencia de esta vitamina. El hecho de que la hiperhomocisteinemia no sea un hallazgo constante en los homocigotos para la variante termolábil, sugiere que otros factores adicionales y diferentes a los genéticos (como la deficiencia de ácido fólico) son necesarios para que las concentraciones de homocisteína en sangre se incrementen. Los diferentes estudios realizados para determinar si esta variante genética es un factor genético de riesgo cardiovascular han dado, sin embargo, resultados contradictorios (13).

- DÉFICIT DE VITAMINA B12

El metabolismo de la vitamina B12 o cobalamina, desde su llegada al intestino hasta la formación de las coenzimas adenosilcobalamina y metilcobalamina, es complejo e implica una serie de reacciones donde participan diferentes enzimas, coenzimas y el cobalto. Su alteración afecta al normal funcionamiento de la metionina sintasa y/o de la metilmalonilCoA mutasa. Cuando el defecto compromete a la metionina sintasa aumenta la homocisteína en plasma y orina. Cuando afecta la metilmalonilCoA mutasa, aumenta el ácido metilmalónico en sangre y orina. A veces el defecto compromete a ambas enzimas y los pacientes tienen aumento de la concentración de homocisteína y del ácido metilmalónico en sangre y orina. Hasta el momento se han descrito diez defectos genéticos que afectan al metabolismo de la cobalamina, tres de ellos afectan la absorción y el transporte; y los otros siete alteran la utilización celular y la formación de las coenzimas metilcobalamina o adenosilcobalamina (1). Estas últimas han sido denominadas por orden alfabético desde la letra A hasta la F según el orden cronológico de su descubrimiento. En las mutantes E y G existe una incapacidad para formar la coenzima metilcobalamina y los pacientes presentan homocistinuria, hipometioninemia, anemia megaloblástica sin acidemia metilmalónica. Estos pacientes responden al tratamiento con cobalamina. Las mutantes C, D y F cursan con homocistinuria y acidemia metilmalónica debido a la incapacidad para formar ambas coenzimas. En las mutantes C, D, E, F y G hay alteración en la remetilación, y clínicamente presentan retraso psicomotor, letargo, trastorno de la marcha, anemia megaloblástica y tromboembolismo. En el examen *postmortem* se observan lesiones vasculares semejantes a las descritas en el déficit de la CβS.

1.4.2-CAUSAS ADQUIRIDAS

Estos tipos de hiperhomocisteinemias son inducidas por la deficiencia nutricional o por la interferencia medicamentosa en el metabolismo del ácido fólico y/o las vitaminas B12 y B6, o por insuficiencia renal tal y como se muestra en la Tabla 3.

TABLA 3.- CAUSAS ADQUIRIDAS DE HIPERHOMOCISTEINEMIA

CAUSAS	PROCESO AFECTADO	METABOLITOS ALTERADOS
↓ ácido fólico	Hcy → metionina	↑Hcy ↓ metionina
↓ vitamina B12	Hcy → metionina	↑Hcy ↓ metionina ↑ Ácido metilmalónico
↓ vitamina B6	Hcy → cistationina	↑Hcy ↑ metionina ↓cisteína
Insuficiencia renal	Hcy → cistationina Hcy → cistationina	↑Hcy ↓ metionina

Hcy: homocisteína

CAUSAS NUTRICIONALES

Deficiencia de ácido fólico

La deficiencia de ácido fólico además de anemia megaloblástica, también induce hiperhomocisteinemia en un porcentaje muy alto de casos. Es más, cuando la concentración de ácido fólico está ligeramente disminuida, son muy altas las probabilidades de desarrollar hiperhomocisteinemia.

Deficiencia de vitamina B12

En la deficiencia subclínica de vitamina B12 o cobalamina, la concentración de homocisteína en sangre es dos veces superior a la de los controles. En los pacientes con evidencia clínica de déficit de cobalamina, la concentración basal de homocisteína está elevada en prácticamente todos los casos. Debido a que el metabolismo de la homocisteína es muy sensible a la disminución intracelular de cobalamina, la medición de homocisteína en plasma es un buen indicador del *status* intracelular de esta vitamina, aún en casos en los que las concentraciones séricas de cobalamina están dentro del intervalo de normalidad. En casos de deficiencia de vitamina B12, la concentración de homocisteína en suero puede aumentar hasta niveles semejantes a los de la homocistinuria clásica.

Deficiencia de vitamina B6

La deficiencia de la vitamina B6 afecta significativamente a la velocidad de las reacciones que transforman la homocisteína en cisteína, al disminuir la actividad de las enzimas CBS y cistationina γ -liasa, e inducir un aumento en las concentraciones de homocisteína en sangre tras la sobrecarga con metionina.

INSUFICIENCIA RENAL

En los pacientes con insuficiencia renal crónica, la concentración de homocisteína en la sangre se encuentra aumentada entre 1,95 y 3,6 veces con respecto a los controles, tal y como confirman estudios recientes (14, 15). En dichos estudios, se ha demostrado que existe una correlación negativa significativa entre el aclaramiento de creatinina y las concentraciones de homocisteína en plasma, y que la primera es uno de los principales determinantes de la concentración de homocisteína. Probablemente, la hiperhomocisteinemia también tenga un papel importante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares prematuras de estos pacientes (14, 16). Sin embargo, a diferencia de las otras causas expuestas de hiperhomocisteinemias adquiridas, la respuesta de los pacientes con insuficiencia renal al tratamiento polivitamínico es muy limitada.

Las bases metabólicas y moleculares del aclaramiento renal de la homocisteína son muy poco conocidas, aunque se sabe que no implican una excreción urinaria importante de homocisteína. A este respecto, los estudios sobre las concentraciones arteriovenosas de homocisteína en riñón no son concluyentes (17, 18).

TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS

Antifolatos

Los fármacos como el metotrexate y sus derivados hepáticos, los poliglutamatos, inhiben la enzima dihidrofolato reductasa. Al interferir con la remetilación de la homocisteína inducen hiperhomocisteinemia. Las fenotiazinas, los antidepresivos tricíclicos, los contraceptivos orales, los tuberculostáticos y el trimetoprin actúan por mecanismos similares.

Los fármacos antiepilépticos como la fenitoína, el fenobarbital, la primidona, la carbamazepina y el ácido valproico también influyen negativamente en el metabolismo del ácido fólico, disminuyendo su absorción intestinal y alterando algunas de las enzimas involucradas en la transferencia de un átomo de carbono, induciendo por ello deficiencia de ácido fólico e hiperhomocisteinemia.

Anti-vitamina B12

El óxido nítrico empleado como anestésico oxida el cobalto de la cobalamina (cob(I)alamina a cob(II)alamina), bloquea el transporte de grupos metilos por la cobalamina e inactiva irreversiblemente la enzima metionina sintasa, induciendo hiperhomocisteinemia.

Antagonistas de la vitamina B6

El azaribine (triactato-6-azaurine) empleado en el tratamiento de la psoriasis refractaria, interfiere con la síntesis de uridina-5-monofosfato, inhibiendo así la C β S e induciendo aumento de la concentración de homocisteína en la sangre. Otros fármacos que interfieren con la función de la vitamina B6 son la isoniazida, cicloserina, hidralacina, carbamacepina y la teofilina.

1.5 HIPERHOMOCISTEINEMIA COMO FACTOR DE RIESGO DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La homocisteína y su metabolismo han sido objeto de especial interés a partir de los años sesenta, cuando por primera vez se describió un defecto genético caracterizado por una gran elevación de la concentración de homocisteína en plasma y un aumento en la excreción urinaria de homocistina (homodímero de la homocisteína), denominándose a la enfermedad "homocistinuria" (19). El cuadro clínico de los pacientes con homocistinuria cursaba con luxación del cristalino, signos y síntomas derivados de afectación ósea y neurológica, así como trombosis en venas y arterias de diferente calibre. Posteriormente, en 1964 se demostró que el defecto molecular responsable de estas alteraciones era el déficit de la enzima C β S (20). Esta forma de homocistinuria es la más frecuente y se conoce como "clásica". Actualmente se ha estimado que las oclusiones vasculares que se producen en esta enfermedad causan la muerte de aproximadamente el 50% de los individuos afectados antes de los 30 años de edad (4).

En el año 1969, McCully (21) describió un paciente con un defecto en el metabolismo de la cobalamina (vitamina B12) que cursaba con elevación de la concentración plasmática de homocisteína y trombosis arterial y venosa, además de otros signos y síntomas propios de la homocistinuria clásica. Posteriormente, en 1972, Mudd et al (22) describieron un paciente con deficiencia de la enzima MTHFR que también presentaba elevación importante en los niveles de homocisteína en sangre junto con accidentes tromboembólicos de repetición.

Estos tres defectos moleculares (C β S, cobalamina y MTHFR) presentaban en común un aumento de la homocisteína plasmática y trombosis en arterias y venas de todos los

calibres, tal como postularon por primera vez McCully y Wilson en 1975 (23). Aunque en un principio no se prestó demasiada atención a esta relación, lo cierto es que un número creciente de estudios experimentales, clínicos y epidemiológicos, han ido demostrando posteriormente que la elevación de la concentración de homocisteína plasmática es un factor de riesgo frecuente e independiente de padecer enfermedad cardiovascular en la población general (24). Es más, según estudios recientes, la hiperhomocisteinemia se encuentra presente en, al menos, un 20% de los pacientes con afectación de diferentes territorios vasculares, tanto arteriales como venosos (4). Dos estudios actuales demuestran una mayor mortalidad entre los pacientes con arteriosclerosis coronaria y concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína (25, 26).

Con todo esto, y tras más de 80 estudios clínicos y epidemiológicos en los que se han estudiado más de 10.000 pacientes, se considera que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo vascular causal, gradual (por cada incremento de 5 $\mu\text{mol/L}$, se calcula un incremento de riesgo de 1.9) e independiente de la hipertensión, el tabaquismo, la hiperlipemia o la diabetes mellitus (24, 27-29).

En las Tablas 4, 5, 6 y 7 se exponen los resultados de múltiples estudios realizados hasta la actualidad demostrando el aumento de los niveles plasmáticos de homocisteína en pacientes con accidente cerebrovascular agudo (ACVA), enfermedad coronaria, enfermedad vascular periférica y trombosis venosa respectivamente.

TABLA 4.- HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES CON ACCIDENTE CEREbroVASCULAR AGUDO

ESTUDIO	PACIENTES (N)	CONTROLES (N)	P*
Laghi et al. 1995 (30)	113	135	0.013
Perry et al. 1995 (31)	107	118	0.004
Evers et al. 1997 (32)	125	60	0.01
Gaham et al. 1997 (33)	211	800	0.001
Vila et al. 1998 (34)	80	48	0.001
Córdoba et al. 1998 (11)	110	100	<0.001

*Relación de la concentración de homocisteína (μmol/L). con grado de significación estadística

TABLA 5.-HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CORONARIA

ESTUDIO	PACIENTES (N)	CONTROLES (N)	P*
Loehrer et al.1996 (35)	70	45	0.001
Verhoef et al.1996 (36)	130	118	0.006
Verhoef et al. 1997(37)	131	101	0.008
Graham et al.1997 (38)	383	800	0.001
Gibelin et al. 1997 (39)	110	40	0.01
Diekers et al. 1998 (40)	191	231	0.001
Wald et al. 1998 (29)	229	1126	0.001

*Relación de la concentración de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$), con grado de significación estadística

TABLA 6.-HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA.

ESTUDIO	PACIENTES (N)	CONTROLES (N)	P*
Taylor et al. 1991 (41)	214	29	0.05
Molgaard et al. 1992 (42)	78	98	<0.001
Mansoor et al. 1995 (43)	65	65	0.001
Graham et al. 1997 (33)	156	800	0.001

*Relación de la concentración de homocisteína (μmol/L), con grado de significación estadística

TABLA 7.- HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES CON TROMBOSIS VENOSA

ESTUDIO	PACIENTES (N)	CONTROLES (N)	P*
Fermo et al 1995 (44)	45	65	0.005
Deulofeu et al 1996 (45)	107	60	0.001
González et al 1998 (9)	64	68	0.05

*Relación de la concentración de homocisteína (μmol/L) con grado de significación estadística.

1.6.- MECANISMO DE ACCION DE LA HOMOCISTEÍNA IMPLICADO EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Algunos de los mecanismos fisiopatológicos propuestos, mediante los cuales la hiperhomocisteinemia puede causar arteriosclerosis y trombosis, se exponen en las Tablas 8 y 9.

1.6.1.- EFECTO ATEROGÉNICO

En cuanto al efecto aterogénico, es importante mencionar que el aumento de la homocisteína circulante podría favorecer la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y su captación posterior por los macrófagos. Este mecanismo podría basarse en la capacidad que tienen los compuestos con grupos sulfhidrilo para reducir *in vitro* el oxígeno a peróxido de hidrógeno. Esta reacción es catalizada por los iones de los metales de transición Cu (II) o Fe(III) e involucran la generación de especies químicas muy reactivas con capacidad de modificar las LDL. Sin embargo, este mecanismo implicaría que los aumentos de cisteína son también pro-aterogénicos y pro-trombóticos, hecho que no se ha comprobado hasta el momento (43).

En experimentación *in vitro* se ha observado que los grupos tioles que contienen compuestos como el de la homocisteína y cisteína, pueden reducir los puentes disulfuro intramoleculares de la (apo)proteína(a) e intermoleculares con la apoB-100. Ello altera su inmunoreactividad e induce la separación de la apo(a) de la Lp(a). Estos cambios aumentan aproximadamente veinte veces la afinidad de la Lp(a) por la fibrina. Sin embargo, las concentraciones de homocisteína utilizadas en estos ensayos son muy superiores a las encontradas en la población general e incluso a las observadas en los pacientes con homocistinuria clásica, razón por la que, la relevancia de sus efectos *in vivo* en condiciones fisiológicas normales es muy discutible. Por el contrario, también hay que tener en cuenta que

los tiempos de exposición *in vitro* a las altas concentraciones de homocisteína son menores que los que se llevan a cabo *in vivo* (43).

La explicación sobre cómo la homocisteína produce placas de ateroma en las arterias se resuelve mediante la teoría de que una acumulación de homocisteína en el cuerpo, conduce a una sobreproducción de una forma altamente reactiva de homocisteína "homocisteína tiolactona" que hace que la LDL se agregue (46). Esta forma reactiva, la "homocisteína tiolactona", se forma en el hígado a partir de metionina mediante una enzima que participa en la formación de proteínas y mediante otros procesos aún no bien comprendidos. Los agregados "LDL-homocisteína tiolactona" son liberados a la sangre desde el hígado. Posteriormente, estos agregados son capturados por los macrófagos de la pared de las arterias, los cuales derivan en gran cantidad de monocitos erráticos de la sangre, y forman células espumosas en las placas arterioscleróticas tempranas. Las células espumosas degradan los agregados "LDL-homocisteína tiolactona" y liberan grasa y colesterol a las placas en desarrollo. Las células espumosas también liberan "homocisteína tiolactona" en las células que se encuentran alrededor de la pared arterial, lo que afecta en el manejo del oxígeno de estas células. Como resultado, se acumulan radicales libres de oxígeno altamente reactivos dentro de las células, lesionando las células de revestimiento de las arterias y estimulando la formación de coágulos (47).

Por otra parte, el incremento de homocisteína produce una agresión sostenida sobre el endotelio. Harker et al en 1976 (48), tras administrar dosis crecientes de homocisteína en babuinos hasta conseguir concentraciones de entre 0,06-0,3 mM, comprobaron en el estudio histopatológica diversas alteraciones como un engrosamiento de la íntima, proliferación de las células musculares lisas, descamación de la superficie luminal y presencia de macrófagos cargados de lípidos.

La proliferación de las células musculares lisas de la pared arterial es un aspecto muy relevante en el proceso arteriosclerótico. La homocisteína a concentraciones de 0.1 mM aumenta la síntesis de ARN en las células musculares lisas de aorta de ratón en cultivo y a concentraciones de 1mM, el incremento de la síntesis es 4.5 veces mayor (49). El crecimiento de las células musculares lisas forma un tejido fibroso junto con una matriz mucoide y tejido elástico degenerativo (47). Este efecto estimulador de la proliferación de las células musculares lisas, conjuntamente con su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las células endoteliales, representa un mecanismo potencialmente relevante para explicar el papel aterogénico del incremento de la concentración de homocisteína.

TABLA 8.-MECANISMOS PROPUESTOS PARA EXPLICAR EL MECANISMO ATEROGÉNICO DE LA HOMOCISTEÍNA.

INTERACCIÓN	MECANISMO	EFFECTO
LDL	Oxidación	↑ fagocitosis a través del receptor "scavenger"
Lp(a)	Reducción	↑ inmoreactividad de la apo (a) y de la afinidad por la fibrina
Células endoteliales	Toxicidad	↓ crecimiento
Células musculares lisas	↑ síntesis de ARN	↑ proliferación

LDL: Lipoproteínas de baja densidad, Lp(a): Lipoproteína (a). Apo (a): apoproteína (a).

ARN: Acido ribonucleico.

1.6.2-EFECTO TROMBOGÉNICO

El efecto trombogénico de la homocisteína es debido fundamentalmente a la inhibición de la síntesis de diferentes factores anticoagulantes como la antitrombina III. Este factor es el inhibidor natural más potente de la trombina, además de inhibir los factores activos IXa, Xa, XIa y XIIa de la coagulación. Mudd et al (4) postularon que en pacientes con homocistinuria hay una disminución funcional entre el 50% y el 75% de la antitrombina III y una predisposición a trombosis similar a la descrita en la deficiencia heredada de la antitrombina III.

Cuando se cultivan células del endotelio en presencia de homocisteína, se comprueba cómo esta inhibe la síntesis de heparán sulfato, indispensable para el funcionamiento del sistema anticoagulante mediado por la antitrombina III (49).

La homocisteína inhibe selectivamente tanto la unión del activador tisular del plasminógeno a las células endoteliales, como la actividad del activador tisular del plasminógeno que ya se encuentra unido a estas células. Este efecto aumenta al incrementar la concentración de homocisteína y disminuye la actividad antitrombótica del endotelio (50).

La homocisteína afecta sustancialmente la expresión anticoagulante del endotelio al inactivar la proteína C. Concentraciones de homocisteína de 0,6 y 1,25 mM reducen un 12% y un 33% respectivamente la actividad de la proteína C. La homocisteína ejerce su efecto sobre la proteína C mediante dos mecanismos diferentes. Uno directo, que involucra la reducción de algunos puentes disulfuro situados en posiciones críticas de la proteína. Este efecto es producido por sustancias con grupos sulfidrilos como el β -mercaptoetanol y la cisteína, pero

no por la homocisteína o la cistina. El segundo mecanismo es indirecto, actuando como inhibidor competitivo de la trombina en la interacción trombomodulina-trombina (50).

En cuanto al efecto de la homocisteína sobre la trombomodulina, actúa impidiendo el transporte hacia la superficie celular, disminuyendo así su concentración plasmática. Este efecto de la homocisteína es mediado por la reducción de algunos puentes disulfuros de la trombomodulina. Como un mecanismo de compensación de las células del endotelio, se produce un aumento de la síntesis del ARNm de la trombomodulina (50).

La homocisteína activa también el factor V de coagulación al inducir la actividad de una proteasa: el activador endógeno de la proteasa, que transforma el profactor V en Va. El factor V es sintetizado por las células del endotelio vascular (49, 50).

La homocisteína estimula la síntesis de tromboxanos mediante un mecanismo sensible al probucol. Además también se ha visto que en los pacientes homocigotos para la deficiencia de la CBS se encuentra aumentada la síntesis de tromboxano A₂ (50).

La exposición prolongada de las células endoteliales a homocisteína disminuye los niveles del factor de relajación. Las células endoteliales liberan el factor de relajación, el óxido nítrico, que en condiciones fisiológicas reacciona fácilmente con los tioles biológicos para formar los S-nitrosotioles caracterizados por su actividad vasodilatadora y antiplaquetaria. A diferencia de la homocisteína, los S-nitroso-tioles no estimulan la producción de peróxido de hidrógeno causante de parte de la disfunción de las células endoteliales (50).

La homocisteína a concentraciones como la observada en los pacientes con homocistinuria (100-600 $\mu\text{mol/L}$) aumenta la actividad de factor tisular entre un 25% y un 100%, mediante un mecanismo que incrementa la transcripción del gen que codifica para este

factor (50). Estos datos señalan que el factor tisular es un mediador potencial de los eventos trombóticos inducidos por la homocisteína.

TABLA 2.- MECANISMOS PROPUESTOS PARA EXPLICAR EL EFECTO TROMBOGÉNICO DE LA HOMOCISTEÍNA.

MECANISMO	INTERACCIÓN
Antitrombina III	Interfiere con su síntesis
Heparán sulfato	Inhibición de la síntesis
Activador tisular del plasminógeno	Inhibe la unión y la actividad a nivel de las células endoteliales
Proteína C	Directo: reducción de puentes disulfuros. Indirecto: Inhibidor competitivo de la interacción trombomodulina-trombina
Trombomodulina	Reducción de puentes disulfuros e inhibición del transporte hacia la superficie del endotelio
Trombina (factor II)	Compite por los receptores de unión de la proteína C.
Factor V	Activa la proteína activadora del factor V
Tromboxano A2	↑ Síntesis
Factor de relajación (óxido nítrico)	↓ Síntesis
Factor tisular	↑ Transcripción del gen

2.-PREECLAMPSIA

2.1 CONCEPTO DE PREECLAMPSIA

La *eclampsia* fue descrita por Celso hace 2000 años, como un cuadro convulsivo que aparecía en algunas gestantes, "cómo si estuviesen poseídas", y desaparecía tras el parto. Posteriormente, fueron los griegos quienes establecieron el nombre de *eclampsia*, cuyo significado es "iluminación", por su aparición tan rápida e inesperada. Y así, durante cientos de años, la eclampsia se consideró como un episodio convulsivo propio de algunas gestantes, hasta que a mediados del siglo XIX, la similitud entre las pacientes edematosas que desarrollaban eclampsia con los individuos hidróticos con alteraciones renales, condujo al examen de las proteínas en orina de las pacientes con preeclampsia, comprobándose la presencia de proteinuria en dichas pacientes. Fue entonces, a finales del siglo XIX, cuando la aparición del esfigmomanómetro permitió medir la presión sanguínea, hallándose un incremento de la misma en pacientes con preeclampsia. Es decir, se pudo comprobar cómo el aumento de la tensión arterial junto con la proteinuria antecedian al episodio convulsivo. En las décadas posteriores, se ha podido confirmar la asociación de hipertensión arterial y proteinuria en el embarazo con un alto riesgo de morbilidad y mortalidad materna y fetal, incluso en ausencia de convulsiones.

Actualmente, para definir la preeclampsia existen diferentes clasificaciones de las enfermedades hipertensivas en la gestación. La definición más extendida es la de la asociación de hipertensión y proteinuria, ya que permite agrupar el mayor número de casos verdaderos de preeclampsia. En este sentido, la inclusión de la proteinuria en las definiciones del

American College of Obstetricians and Gynecologists (51) y de la International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP) (52), las dos más utilizadas en las publicaciones internacionales, tiene como objetivo establecer un criterio clínico que permita diferenciar la preeclampsia de la hipertensión gestacional. (Tabla 10). La clasificación aceptada por el grupo de Consenso de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) sigue los mismos criterios de la ISSHP (53, 54). Es decir, se considera preeclampsia a la hipertensión desarrollada durante el embarazo, por encima de la semana 20, con asociación de proteinuria y posibles edemas. La preeclampsia puede ser leve o grave, como se muestra en la Tabla 10.

**TABLA 10.- CATEGORÍAS DE HIPERTENSIÓN INDUCIDA POR EMBARAZO,
SEGÚN LA ISSHP (INTERNATIONAL SOCIETY FOR THE STUDY OF
HIPERTENSION IN PREGNANCY)**

Hipertensión inducida por gestación (HIG)

Detección de 90 mmHg de tensión diastólica después de las 20 semanas de gestación, en dos ocasiones separadas al menos 4 horas, en una mujer previamente normotensa.

Hipertensión gestacional

Criterios de HIG con proteinuria en orina de 24 horas $\leq 300\text{mg/L}$.

Preeclampsia leve

Criterios de HIG con proteinuria en orina de 24 horas $\geq 300\text{ mg/L}$.

Preeclampsia grave: preeclampsia con uno ó más de los siguientes criterios:

TA= 160/110 mmHg

Proteinuria $>5\text{g}/24\text{ h}$

Plaquetas < 100.000

Elevación de transaminasas

Hemólisis

Dolor en epigastrio

Clínica neurológica

Eclampsia

Aparición de convulsiones o coma en una mujer con HIG

Hipertensión en el embarazo: Cuando la tensión arterial diastólica (TAD) es ≥ 100 mmHg en una sola ocasión o cuando la TAD es > 90 mmHg en dos o más ocasiones consecutivas con una diferencia mínima entre ambas de 4 horas (53, 54).

La medición de la tensión arterial debe realizarse de la siguiente forma:

- a) La gestante sentada y el brazo descansado sobre una mesa a nivel del corazón, habiendo permanecido previamente en esta posición al menos cinco minutos. También puede realizarse la medición en posición de ligero decúbito lateral izquierdo.
 - b) El manguito tendrá una bolsa de aire de unos 12-15 cm de ancho, que rodee al menos el 80% de la circunferencia del brazo, debiendo quedar bien ajustado a la altura del corazón.
 - c) La bolsa de aire debe insuflarse rápidamente y vaciarse a razón de 2-3 mmHg por segundo.
- Se tomará como presión definitiva la media de dos lecturas.

Proteinuria en el embarazo: Proteinuria total en 24 horas ≥ 300 mg, ó 30 mg/dl en una muestra aislada. Si se utilizan tiras reactivas o mediante dos muestras urinarias recogidas con un intervalo mínimo de 4 horas, obtenidas por micción intermedia o sondaje:

1. 1 g. de albúmina/l ó más de 2+ mediante tiras reactivas ó
2. 300 mg de albúmina/l ó 1+ mediante tiras reactivas si la densidad es < 1030 y el pH < 8 (53, 54).

McCartney et al (55), en un extenso estudio sobre muestras de biopsia renal obtenidas de mujeres embarazadas hipertensas, encontraron invariablemente que había proteinuria cuando la lesión glomerular era evidente. Es importante al mismo tiempo señalar, que tanto la

proteinuria como las alteraciones de la histología glomerular se desarrollan tardíamente en el curso de la hipertensión inducida por el embarazo.

Edemas en el embarazo: retención de líquidos objetivada por un incremento de 1 kg de peso en un periodo de tiempo igual o inferior a 1 semana (53, 54).

Aunque el edema es un hallazgo habitual en las gestantes, el edema que aparece en la preeclampsia es un edema patológico, y no sólo se manifiesta en las partes declives, sino que suele incluir la cara y las manos, persistiendo aún después de levantarse de la cama. Por tanto, aunque el edema por sí solo no permite establecer el diagnóstico de preeclampsia, la mayoría de los autores están de acuerdo en que su ausencia sí podría excluir el diagnóstico de preeclampsia (56, 57).

La forma más común de hipertensión arterial inducida por la gestación representa una hipertensión aislada y transitoria sin evidencias de alteración multiorgánica y se asocia a un resultado perinatal normal. De ahí la importancia en el diagnóstico diferencial entre hipertensión gestacional y preeclampsia leve. Aunque existen suficientes evidencias para considerar que una parte importante de los casos de hipertensión gestacional representan formas latentes de hipertensión crónica que se manifiestan ante la sobrecarga hemodinámica de la gestación (58), es muy probable que en estas pacientes se desarrolle una verdadera preeclampsia, en la que la intensidad del cuadro es leve, o la lesión renal no es suficiente para producir proteinuria (59, 60). En conclusión, la definición de preeclampsia no es del todo correcta, ya que se basa en un signo clínico, y por tanto, es lógico que incluya algunos casos leves de preeclampsia que no han desarrollado lesión renal.

Todo esto sugiere la gran heterogeneidad del origen de la preeclampsia, en el que se han descrito diversos factores de riesgo resumidos en la Tabla 11 según su origen placentario o materno.

TABLA 11.- CLASIFICACIÓN DE LOS FACTORES DE RIESGO SEGÚN SU ORIGEN (50)

PLACENTARIO	MATERNO
<ul style="list-style-type: none"> -Nuliparidad -Aumento de la masa trofoblástica -Gestación gemelar -Embarazos de compañeros diferentes -Uso previo de un método anticonceptivo de barrera -Embarazos después de donación de ovocitos 	<ul style="list-style-type: none"> -Raza negra -Edad>40 años -Historia familiar de preeclampsia -Hipertensión crónica -Enfermedad renal crónica -Síndrome antifosfolípido -Diabetes mellitus -Gen del angiotensinógeno

2.2.- EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

La incidencia de preeclampsia es muy variable y difícil de evaluar, presentando importantes cambios en diferentes poblaciones y localizaciones geográficas. Habitualmente se afirma que la incidencia de preeclampsia se aproxima a un 5%. En España la incidencia de preeclampsia se encuentra en torno al 2%, por debajo de la descrita en estudios anglosajones (54). En el Hospital "La Paz" de Madrid, en el año 1999, la preeclampsia fue la segunda causa de embarazo patológico después de la diabetes gestacional, suponiendo el 20.8% de todas las gestaciones patológicas y el 2,35% de todos los embarazos atendidos en dicho hospital en 1999.

La paridad parece influir en el desarrollo de preeclampsia, habiéndose comprobado una mayor predisposición en gestantes nulíparas con respecto a las multíparas (61). Estudios longitudinales realizados en el norte de Europa en cohortes de mujeres observadas desde el inicio de la gestación, observaron una incidencia de preeclampsia en torno a un 2% en primíparas (59).

Los factores raciales también son importantes, habiéndose comprobado una mayor incidencia de preeclampsia en gestantes de raza negra frente a las de raza blanca (61).

La tendencia a la preeclampsia parece ser hereditaria. Así lo pusieron de manifiesto Chesley y Cooper (62) tras estudiar a hijas y nietas de mujeres preeclámplicas que dieron a luz en el Margaret Hague Maternity Hospital entre 1935 y 1984. Estos autores concluyen que la preeclampsia-eclampsia es altamente hereditaria. Pese a múltiples estudios, aún no se ha llegado a identificar un marcador genético apropiado para la preeclampsia (63-65).

Aunque hace años parecía que el nivel socioeconómico influya sobre la incidencia de preeclampsia, en la actualidad no se considera un factor de riesgo, debido a que la mayoría de las mujeres reciben una asistencia prenatal adecuada. Este hecho no ocurría hace unas décadas, observándose por entonces que a menor nivel socioeconómico, existía un peor control de la gestación.

2.3. BASES FISIOPATOLÓGICAS DE LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Dependiendo de la localización donde se sitúe la lesión endotelial, así se manifestarán los distintos cuadros clínicos de la preeclampsia. Ahora bien, esta enfermedad es extremadamente inconstante en su desarrollo, y por tanto, en su presentación. Puede debutar con cualquiera de las manifestaciones clínicas, así como puede haber ausencia de todas ellas en algunos cuadros graves.

SISTEMA CARDIOVASCULAR:

Como ya se ha explicado anteriormente, la preeclampsia se caracteriza por un vasoespasmo generalizado y, por tanto, la hipertensión es consecuencia del vasoespasmo arteriolar. Sin embargo, la gravedad del vasoespasmo no se corresponde con el grado de lesión en algunos órganos. El vasoespasmo induce una disminución de la capacidad del sistema vascular, aumentando la resistencia vascular y haciendo menor el volumen plasmático, en oposición al aumento fisiológico que se produce en la gestación normal (66, 67). Es decir, la ausencia virtual de un volumen sanguíneo expandido es probablemente consecuencia de la

vasoconstricción generalizada, que a menudo, empeora con aumento de la permeabilidad vascular, provocando una disminución del líquido intravascular y un aumento del líquido extravascular.

La pérdida de la integridad vascular a nivel capilar junto con la hipoproteïnemia, conducen al desarrollo de edema extracelular. El edema pulmonar es una complicación posible, especialmente en el postparto por la gran movilización de fluidos, aunque en la actualidad es un fenómeno muy poco frecuente (66, 67).

En cuanto a los cambios hemodinámicos, la preeclampsia se caracteriza por un aumento de la postcarga cardíaca con descenso del gasto cardíaco al aumentar la resistencia vascular. La precarga ventricular suele ser normal o incluso baja en ausencia de expansión de volumen, lo que hace que la función ventricular se encuentre dentro de los límites normales a hiperdinámicos (66-68). El gasto cardíaco varía de forma predecible inversamente a la resistencia vascular, y al aumentar la tensión arterial y la postcarga, el gasto cardíaco desciende (67). Sin embargo, los fármacos que reducen la resistencia vascular periférica como la hidralacina, incrementan el gasto cardíaco (69). Por otra parte, la contractilidad miocárdica está pocas veces deteriorada antes del tratamiento, y la función ventricular suele encontrarse dentro de los límites normales de la hiperdinamia (66, 70).

-FUNCION RENAL:

Durante una gestación normal, el flujo sanguíneo renal y la velocidad de filtración glomerular se encuentran aumentados en grado moderado. Sin embargo, con el desarrollo de hipertensión en el embarazo, se reducen la perfusión renal y la filtración glomerular (71). En la mayoría de las mujeres preeclámpsicas, la disminución leve-moderada de la filtración

glomerular parece ser el resultado de una disminución del volumen plasmático, por lo que la creatinina plasmática pocas veces se encuentra por debajo de las concentraciones normales en ausencia de embarazo, a excepción de los casos de preeclampsia grave donde la afectación renal es intensa y la creatinina en el plasma puede estar elevada el doble o el triple de los valores normales en la gestante (71). La causa de este aumento de la creatinina, se debe, probablemente, a alteraciones renales intrínsecas causadas por vasoespasmo intenso (72, 73). La perfusión renal total no parece estar reducida en las mujeres preeclámpsicas (74). Taufield et al (75) observaron que la preeclampsia se asocia con una disminución de la excreción urinaria de calcio debido a un incremento de la reabsorción tubular. Este mecanismo explicaría la disminución de la excreción de calcio en las mujeres embarazadas hipertensas.

El endotelio glomerular es especialmente sensible a la lesión de la preeclampsia, lo que explica la constancia del signo clínico de la proteinuria. Como cualquier glomerulopatía, en la preeclampsia existe un aumento de la permeabilidad a la mayoría de las proteínas de peso molecular alto como la albúmina, la hemoglobulina, la transferrina y las globulinas (71). Si no hay una enfermedad renal crónica subyacente, la proteinuria desaparece gradualmente después del parto.

La lesión anatomopatológica característica es la "endoteliosis capilar glomerular", descrita por primera vez por Sheehan en 1950 (76) y confirmada mediante estudios con microscopía electrónica de biopsias renales de mujeres con preeclampsia por Spargo en 1959 (77). Las células endoteliales de los capilares glomerulares están hinchadas y se acompañan de depósitos subendoteliales de material proteínico (77). Los túbulos colectores pueden aparecer obstruidos por cilindros de derivados proteínicos.

El filtrado glomerular no se reduce de forma significativa en la preeclampsia, aunque se han descrito casos graves de lesiones microvasculares que condujeron a fallo renal agudo.

como la necrosis cortical renal o más rara la necrosis tubular renal (54, 78). La necrosis cortical renal es una lesión irreversible que se produce al necrosarse la porción principal de la corteza de ambos riñones, causando oliguria o anuria, que desarrolla rápidamente hiperazoemia.

En cuanto al sistema de renina-angiotensina-aldosterona, en la preeclampsia se encuentran disminuidos los niveles de renina y angiotensina, en comparación con los altos niveles característicos de la gestación normal. Esto se debe probablemente a que este sistema en la preeclampsia está conservado y los cambios son reactivos a las modificaciones de la enfermedad sobre el volumen plasmático y la presión sanguínea (79). Debido a la retención de sodio y a la hipertensión de la preeclampsia, disminuye la secreción de renina por el aparato yuxtaglomerular. Como la renina es la enzima que cataliza la conversión del angiotensinógeno a angiotensina I (que se transforma en angiotensina II mediante la enzima de conversión), las concentraciones de angiotensina II disminuyen, dando lugar a una reducción de la secreción de aldosterona.

-SISTEMA DE COAGULACION:

Existe un estado de hiperagregabilidad plaquetaria, con un secuestro de plaquetas en la pared vascular, por lo que suele haber una reducción del recuento plaquetario y un aumento de su tamaño medio, indicativo de la hiperproducción plaquetaria en respuesta a un consumo excesivo (80, 81). La trombocitopenia materna puede ser inducida en forma aguda por la preeclampsia, recuperándose los niveles de plaquetas progresivamente hasta alcanzar valores normales dentro del plazo de unos días (80). La frecuencia e intensidad de la trombocitopenia materna varían en los distintos estudios, dependiendo aparentemente de la intensidad del

proceso patológico, el tiempo transcurrido entre la aparición de la preeclampsia y el parto, y la frecuencia con la que se realizan los recuentos de plaquetas (81).

Se consider trombocitopenia franca cuando existen niveles plaquetarios inferiores a 100.000 plaquetas/ μ l. Este es un signo de empeoramiento del cuadro en gestantes con preeclampsia, e indicativo de finalización de la gestación. Si el recuento de plaquetas sigue disminuyendo, pueden producirse pérdidas excesivas de sangre durante y después del parto, aumentando al mismo tiempo el riesgo de hemorragia intracraneal materna (82). Sin embargo, a pesar de existir una trombocitopenia materna intensa, no se han identificado casos de trombocitopenia fetal o neonatal (83, 84).

La trombocitopenia que acompaña la preeclampsia y eclampsia grave puede asociarse a destrucción de hematíes a su paso por arteriolas y capilares, caracterizada por esquizocitosis, esferocitosis, reticulocitosis, hemoglobinuria y ocasionalmente hemoglobinemia (85). Es probable que en las mujeres preeclámpsicas las alteraciones plasmáticas de los lípidos de la membrana del eritrocito estén aumentadas por disminución de las concentraciones de albúmina en suero, y estos cambios intensifiquen la hemólisis y la fragmentación (71, 85).

Por otro lado, el estado de hipercoagulabilidad fisiológico del embarazo se acentúa en la preeclampsia. La antitrombina III se encuentra disminuida en las mujeres con preeclampsia en comparación con las mujeres normotensas embarazadas (86, 87). La fibronectina, glucoproteína asociada a la membrana basal de la célula endotelial vascular, se encuentra elevada en las mujeres con preeclampsia (87, 88). El inhibidor de la proteína C parece también disminuir por la calicreína, la cual aumenta debido a la activación de la vía intrínseca de la coagulación (86). El alargamiento del tiempo de trombina y el aumento de los productos de degradación del fibrinógeno pueden desembocar, aunque con poca frecuencia, en un síndrome

de coagulación intravascular diseminada (86). La afectación hepática grave o el desprendimiento de placenta incrementan mucho esta posibilidad (81, 86)

-FUNCION HEPÁTICA:

La lesión vascular a nivel hepático conduce a un desarrollo de manifestaciones como dolor en epigastrio o vómitos. La lesión más frecuente es la necrosis hepatocelular con depósitos de fibrina que producen elevación de las transaminasas. La elevación sérica de las enzimas hepáticas y, por tanto la lesión hepática, se acompañan generalmente de trombocitopenia (89).

La hemorragia hepática puede causar desde un hematoma subcapsular hasta una rotura hepática. De hecho, desde la aparición de la tomografía computerizada se han conseguido diagnosticar un mayor número de hemorragias sin rotura hepática (90). La rotura hepática provoca una hemorragia intraabdominal, mortal en la mayoría de los casos (90). Smith et al (91), en una revisión de 28 casos de rotura hepática espontánea asociada a preeclampsia encontraron una tasa de mortalidad del 30%, y concluyeron que el taponamiento y el drenaje superaron en eficacia a la lobectomía hepática. Afortunadamente, estas complicaciones fatales son muy poco frecuentes en la actualidad (90).

La asociación de necrosis hepática con trombocitopenia y hemólisis se ha definido como síndrome de HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets) (89, 92). Este es un cuadro muy grave ante el que actuar rápidamente. Los datos analíticos en que debe basarse el diagnóstico son : hemoglobina inferior a 10 g/dL, bilirrubina aumentada mayor de 1,2 mg/dL, enzima láctico deshidrogenasa (LDH) mayor de 70 UI/L y plaquetas por debajo de 100000/ μ l.(89, 92)

Aproximadamente dos tercios de los casos de Síndrome de HELLP suceden en el embarazo, y un tercio en el puerperio. Parece haber una estrecha relación entre este síndrome y la aparición de eclampsia en el puerperio, por lo que la presencia de síndrome de HELLP debe considerarse como factor de riesgo de desarrollo de eclampsia puerperal.

-SISTEMA NEUROLÓGICO:

El sistema vascular cerebral es extremadamente sensible en la preeclampsia, no correlacionándose siempre el grado de vasoespasmo con las cifras de tensión arterial, ya que hasta un 20% de las eclampsias pueden debutar con tensiones normales o límites. Esto hace que la encefalopatía en la preeclampsia no pueda considerarse como una encefalopatía hipertensiva, pues no existe evidencia de que la hipertensión grave en otras entidades conduzca a convulsiones (93, 94). Brown et al (94) encontraron que cerca de la mitad de las gestantes preeclámpticas estudiadas por tomografía craneal, presentaban hallazgos anormales consistentes fundamentalmente en áreas corticales hipodensas, que correspondieron a hemorragias petequiales y zonas de infarto. Estos hallazgos explican el hecho de que algunas mujeres con preeclampsia sufran convulsiones y otras no las padezcan, ya que el grado de lesión isquémica y petequial se altera adicionalmente por un umbral de convulsiones inherente a cada paciente.

Además del riesgo de convulsiones y hemorragia cerebral, el área occipital presenta un porcentaje mayor de manifestaciones clínicas como fotopsias, escotomas y ceguera cortical transitoria, al ser una zona intermedia entre dos territorios vasculares (93, 95). Se ha encontrado que algunas pacientes con grados variables de *amaurosis* presentan radiográficamente hipodensidades extensas del lóbulo occipital, siendo la resonancia magnética la mejor técnica diagnóstica para localizar estas lesiones (96). En la mayoría de los

casos, el pronóstico es bueno y las mujeres suelen recuperarse en un plazo que oscila entre unas horas y una semana (95). El desprendimiento de retina también puede ser causa de alteraciones de la visión, aunque suele ser unilateral y raras veces causa una pérdida total de la visión, como la ceguera cortical.

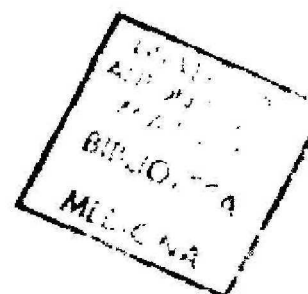
2.4 ETIOPATOGENIA DE LA PREECLAMPSIA

Frente al estado de vasodilatación fisiológica que caracteriza a la gestación normal, la preeclampsia es un estado de marcada vasoconstricción generalizada secundaria a una disfunción del endotelio vascular. A este estado se asocia una isquemia placentaria, que parece producirse mucho antes del desarrollo del cuadro clínico, el cual podría ser responsable de la liberación a la circulación sistémica de factores tóxicos para el endotelio vascular.

Para intentar explicar la etiopatogenia de la preeclampsia, el esquema **placenta-endotelio- plasma** sigue siendo válido, pero no completo ni definitivo (97).

Papel de la placenta en la preeclampsia:

Parece evidente que el componente del embarazo que conduce a la preeclampsia reside en la placenta (97). Una paciente puede desarrollar preeclampsia sin el útero, según se describe en casos de gestación abdominal (98), o sin el feto, como se ha descrito en casos de mola hidatídica completa (99, 100). Por tanto, aunque son esenciales las vellosidades coriónicas, no necesitan ser el soporte del feto ni estar situadas dentro del útero.



Es el déficit de perfusión placentaria la característica básica en el desarrollo de la preeclampsia. Esto puede ser debido, bien a una implantación defectuosa de la placenta, o bien a un crecimiento anormalmente aumentado de la placenta que induzca una desproporción entre el tejido trofoblástico y su perfusión sanguínea, como ocurre en los casos de gestaciones gemelares, de mola hidatiforme o de fetos hidrópicos (101). En la preeclampsia "primaria" (sin una situación predisponente como las mencionadas), el trastorno podría consistir en un déficit en la invasión por parte del feto del tejido trofoblástico de los vasos maternos, según Brossens y cols. (102).

En la gestación normal, la invasión trofoblástica sustituye la capa muscular de las arterias espirales por células trofoblásticas, que permiten que dichas arterias se dilaten y puedan transportar un gran caudal sanguíneo, muy superior al pregestacional (103). Sin embargo, cuando esta invasión trofoblástica no se produce, o lo hace de forma incompleta, como ocurre en la preeclampsia, las arterias espirales conservan su anatomía, persistiendo los vasos sanguíneos de alta resistencia hasta el final de la gestación afectando así a la unidad feto-placentaria (102, 104). La fisiología de la invasión trofoblástica en la gestación normal está todavía en investigación. Pero parece que los mecanismos fisiológicos de reconocimiento y protección inmunológica para garantizar la implantación y el desarrollo placentario, que se producen en la gestación normal, no se desarrollan en la preeclampsia.

Desde un punto de vista inmunológico, la unidad fetoplacentaria tiene las características de un *aloinjerto*; es decir, cuando los mecanismos normales de inmunotolerancia entre trofoblasto y tejido materno fracasan, se inicia una reacción inmunitaria anormal. Así se ha demostrado en la preeclampsia la implicación de la inmunidad humoral y celular. Dentro de la *inmunidad humoral*, se ha descrito una disminución en los niveles circulantes de IgG e IgM, así como un déficit absoluto o relativo de anticuerpos

bloqueantes (54). En cuanto a la *inmunidad celular*, se ha demostrado que las células de la decidua son las encargadas de realizar el reconocimiento inmunológico del trofoblasto de los antígenos fetales (54). Kovatz et al (105), han identificado un antígeno de histocompatibilidad denominado HLA-G, que se expresa en el citotrofoblasto y que participa en la protección inmunológica y el mantenimiento del embarazo, estando alterado en la preeclampsia. Por su parte, Haeger et al (106) hallaron que el factor de complemento, los neutrófilos y los macrófagos son activados en mujeres con preeclampsia grave.

La disminución de la perfusión placentaria conduciría a la producción de ciertos factores capaces de actuar a nivel sistémico en la madre, produciendo los cambios fisiopatológicos característicos de la preeclampsia.

Papel del endotelio en la preeclampsia:

El endotelio en condiciones normales mantiene la integridad vascular, impide la agregación plaquetaria, e influye en el tono del músculo liso de la pared arterial. Sin embargo, el endotelio de las pacientes con preeclampsia presenta importantes alteraciones funcionales y estructurales, haciendo a las células endoteliales incapaces de mantener estas tres funciones, lo que conduce a un incremento de la permeabilidad capilar, trombosis plaquetaria e incremento del tono vascular.

Mediante microscopía electrónica, se han objetivado cambios morfológicos en el endotelio vascular de pacientes con preeclampsia. Los signos de alteración y lesión celular se pueden resumir en (107-110):

- a) Incremento del número y tamaño de las vesículas de secreción y de protusiones de las células endoteliales.
- b) Aumento del colágeno, fibrina, fibronectina intra y extracelular y de las vesículas lipídicas de la pared vascular.
- c) Vacuolización de las células endoteliales y presencia de lipófagos en la pared vascular.
- d) Desorganización y erosión del endotelio

Algunos autores también han observado una disminución de la luz de los capilares en gestantes afectas de preeclampsia, debido a un incremento de volumen de las células endoteliales (107, 108, 110).

En la gestación normal existe un estado de baja resistencia arteriolar, lo que permite tolerar un marcado incremento del volumen plasmático, sin experimentar aumentos de la presión arterial. El endotelio presenta una falta de respuesta característica a la acción de vasopresores como la angiotensina, debido a un cambio en la respuesta del endotelio vascular a los factores vasoactivos circulantes (111). A nivel molecular, esta situación se explica por un incremento relativo en la producción de prostaciclina y óxido nítrico (vasodilatadores producidos por el endotelio vascular) sobre la del tromboxano (vasoconstrictor producido por las plaquetas). Por el contrario, en la preeclampsia, la acción endotóxica del plasma induce una inversión de la situación fisiológica, existiendo una reducción de la síntesis de prostaciclina y óxido nítrico y un aumento de vasoconstrictores como tromboxanos (112, 113). En los casos graves se produce una pérdida de mayor o menor proporción de la

membrana endotelial vascular (50). El conjunto de estas alteraciones conduce a un estado de vasoespasmo a nivel arteriolar y una hiperreactividad vascular a las sustancias vasoactivas circulantes que constituye la base de todas las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Otras sustancias vasoactivas que se encuentran alteradas en la preeclampsia, además del tromboxano, el óxido nítrico y las prostaciclina son el factor von Willebrand, la endotelina, la molécula de adhesión celular VCAM-1, la trombomodulina, la fibronectina celular, el factor de crecimiento endotelial y el *turnover* plaquetario (112-121). Todos estos marcadores se resumen en la Tabla 12. Lo más importante de todas estas sustancias causantes de daño endotelial, es que ya se encuentran aumentadas semanas e incluso meses antes de que la preeclampsia se haga evidente (118, 121-123).

Sin embargo, cuando en experimentación *in vitro* se pusieron algunas de estas sustancias procedentes de mujeres con preeclampsia en contacto con células endoteliales, sólo en algunas de ellas se observó daño endotelial (124). Por tanto, aunque se ha confirmado y demostrado morfológicamente la existencia de lesión en los capilares glomerulares, arterias umbilicales y arterias espirales de gestantes preeclámplicas, no se puede generalizar que exista un daño vascular en el resto de los lechos vasculares (107, 125-127). Parece, en conclusión, más apropiado considerar la alteración de la función endotelial en la preeclampsia como una **disfunción endotelial** más que un daño o una lesión (97).

Aunque es evidente que la reducción de la perfusión placentaria es un importante factor en la etiopatogenia de la preeclampsia, no es suficiente para explicar toda la fisiopatología de la misma. Recientemente se ha comprobado que los factores de riesgo para la preeclampsia (hipertensión previa, obesidad y diabetes) son los mismos que para la arteriosclerosis (97). La dislipemia observada en la arteriosclerosis es idéntica a los cambios lipídicos observados en la preeclampsia: aumento de triglicéridos, aumento de ácidos grasos y

disminución del colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (128,131). Esto podría enfocar hacia una fisiopatología similar entre la preeclampsia y la arteriosclerosis. Por otra parte, las alteraciones morfológicas halladas en la placenta y las arterias espirales de gestaciones con preeclampsia, se han definido como "aterosis aguda" o hiperplasia aterosclerótica, siendo atribuibles a modificaciones en la reestructuración morfo-funcional normal de las arterias espirales durante el embarazo. Estas alteraciones se caracterizan por una infiltración, en la pared vascular lesionada, de células con un elevado contenido lipídico (108, 110).

TABLA 12.- CAMBIOS EN DISTINTAS SUSTANCIAS VASOACTIVAS CAPACES DE ACTIVAR DE FORMA PATOLÓGICA EL ENDOTELIO EN LA PREECLAMPSIA

↑ Factor von Willebrand circulatorio (114)
↑ Endotelina (115)
↑ Tromboxano/prostaciclina circulatorias (112,113, 116)
↑ Molécula de adhesión celular VCAM-1 (117)
↑ Fibronectina celular (118)
↑ Factor de crecimiento endotelial (119)
↑ <i>Turnover</i> plaquetario (120)
↑ Trombomodulina (121)
↓ Excreción de óxido nítrico (112, 113)
↓ Excreción de prostaciclina (112, 113)

Papel del plasma en la preeclampsia:

Se ha podido comprobar que el plasma de las pacientes con preeclampsia muestra una capacidad de inducir alteraciones funcionales y estructurales del endotelio vascular, que finalmente constituirán la base de las manifestaciones clínicas. Como ya se describió con anterioridad, existen ciertos factores plasmáticos que actúan sobre el endotelio vascular, a través de una hiperestimulación más que una lesión anatómica del mismo. De ahí, que actualmente en vez de factores citotóxicos, se les denominen "factores alterados".

La identificación precisa de estos "factores alterados" en el plasma es todavía una incógnita y todos los estudios recientes están enfocados a su identificación. Los "factores alterados" más conocidos y estudiados en el plasma de pacientes con preeclampsia son los **lípidos**, y más específicamente los lipoperóxidos (lípidos oxidados) (132).

La placenta isquémica e inflamatoria de la preeclampsia sintetiza una gran cantidad de radicales libres (con gran capacidad oxidativa). Cuando los lípidos, transportados en las lipoproteínas plasmáticas, (fundamentalmente lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)), pasan por la placenta, los radicales libres los oxidan formando "lipoperóxidos" (54, 132, 133). Los lipoperóxidos son inductores de lesión y disfunción endotelial. En la preeclampsia, las lipoproteínas, en mayor concentración que en condiciones normales, debido a la hiperlipemia fisiológica de la gestación, sufrirían importantes modificaciones oxidativas a su paso por la interfase útero-placentaria. Por otro lado, la activación endotelial hace que el endotelio genere una importante cantidad de lipoperóxidos, creando así un círculo cerrado en la patogenia de la preeclampsia (54, 71).

Además de los lípidos, existen otras sustancias capaces de dañar el endotelio vascular en la preeclampsia. Entre ellas se encuentran las *citocinas*, y más en concreto las *citocinas* proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) o la interleucina 2 (IL-2). Estas *citocinas* ejercen un papel importante en la estimulación patológica del endotelio vascular a varios niveles, que reproducen muchos de los cambios observados en la preeclampsia (134-136).

Wang et al (137) hallaron una disminución progresiva de las relaciones prostaciclina/tromboxano y vitaminaE/peróxidos lipídicos al incrementarse la gravedad de la preeclampsia, al contrario de lo que sucede en la gestación de pacientes normotensas, caracterizadas por aumento progresivo de ambas relaciones. El aumento del tromboxano produce una intensificación del vasoespasmo y de la destrucción de plaquetas, mientras que el aumento de peróxidos lipídicos aumenta la lesión endotelial.

Las *células trofoblásticas*, y más en concreto, las partículas de trofoblasto, se encuentran en mayor concentración en mujeres con preeclampsia respecto a la gestación normal. *In vitro*, estas células trofoblásticas muestran una importante capacidad de provocar la producción de citocinas y factores vasoactivos en células endoteliales (138). Pero aún queda por determinar si la liberación de células trofoblásticas es un fenómeno primario o se produce de forma secundaria a la lesión o isquemia placentaria.

Recientemente se ha descrito que la *homocisteína*, conocido factor de daño endotelial pudiera estar implicada en la etiopatogenia de la preeclampsia, como veremos a continuación (111).

3.-HIPERHOMOCISTEINEMIA Y

PREECLAMPSIA

Actualmente, científicos de todo el mundo, en su afán por aportar y descubrir nuevos factores involucrados en la etiopatogenia de la preeclampsia, están centrando gran parte de sus estudios en la *homocisteína* como posible causante de numerosos cuadros preeclámpicos (111). Y más que la homocisteína *per se*, parecen que son las concentraciones elevadas de homocisteína plasmática, las que constituyen un factor de riesgo de daño vascular, y por tanto también de daño endotelial (4, 24-26).

Córdoba et al (4) demostraron que al menos un 20% de los pacientes con lesión vascular, tanto arterial como venosa, tenían niveles aumentados de homocisteína. Y posteriormente, numerosos estudios han demostrado que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo vascular, que interviene directamente en la patogenia del daño vascular, cuya intensidad está en relación directa con su concentración sanguínea (24, 27-29).

El mecanismo de acción por el que la homocisteína actúa sobre el endotelio vascular es doble: un efecto aterogénico y un efecto trombogénico (43, 46-50). El efecto aterogénico se basa fundamentalmente en la capacidad de la homocisteína en favorecer la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), que conlleva a una producción en las arterias de placas de ateroma. En la preeclampsia, como ya se ha mencionado anteriormente, existe un aumento de la oxidación de lipoproteínas transformándose en "lipoperóxidos" que causan un gran daño

endotelial (54, 132, 133). La agresión sobre el endotelio induce la formación de más cantidad de lipoperóxidos, cerrando así el círculo (54, 71).

Por otra parte, la homocisteína también tiene un efecto trombogénico, siendo capaz de actuar a distintos niveles de las vías de coagulación, inhibiendo la síntesis de diversos factores anticoagulantes (antitrombina III, heparán sulfato, activador tisular del plasminógeno y óxido nítrico) y aumentando la síntesis de algunos factores procoagulantes (tromboxano y factor tisular) (49, 50). En concreto, el aumento demostrado de los niveles de tromboxano, también descrito en pacientes homocigotos para la deficiencia de CBS (50), se ha encontrado en pacientes con preeclampsia. Es más, parece que la gravedad de la preeclampsia se incrementa a medida que aumentan los niveles de tromboxano (112, 113, 137). Asimismo, también se ha puesto de manifiesto una reducción del óxido nítrico en el plasma de mujeres preeclámplicas, disminuyendo así la vasodilatación vascular (112, 113). Otras sustancias vasoactivas que simultáneamente se encuentran alteradas en pacientes con preeclampsia y pacientes con niveles altos de homocisteína son la trombomodulina, la endotelina y el factor tisular (112-121).

A nivel endotelial, en pacientes con preeclampsia se han demostrado alteraciones, no sólo estructurales, sino también funcionales. Como ya se ha mencionado, también la homocisteína produce una agresión sobre el endotelio (48). En los vasos placentarios y arterias espirales de pacientes con preeclampsia, se ha observado un aumento del colágeno, la fibrina y la fibronectina intra y extracelular, lo que conduce a una disminución de la luz vascular (107-110).

Igualmente, en estudios en arterias de ratones, se ha puesto de manifiesto que a concentraciones de homocisteína de 0,1 mM aumenta la síntesis de células musculares lisas.

formando un tejido fibroso rico en fibrina (49). De igual manera, la degeneración y erosión del endotelio vascular se ha observado tanto en arterias de pacientes con preeclampsia, como en babuinos sometidos a concentraciones elevadas de homocisteína (48, 107-110)

Por último, se ha podido observar, tanto en gestantes con preeclampsia, como en animales sometidos a dosis crecientes de homocisteína plasmática, la presencia de vacuolización de las células endoteliales y de macrófagos cargados de lípidos (48, 107-110).

Por todas estas similitudes expuestas, parece lógico pensar que la agresión endotelial presente en gestantes con preeclampsia, pueda estar producida por un aumento de los niveles de homocisteína plasmática. Es decir, que las gestantes que desarrollan preeclampsia durante el embarazo pueden tener hiperhomocisteinemia, y que ésta sea una de las probables causas del cuadro hipertensivo. Por tanto, la asociación hiperhomocisteinemia-preeclampsia pudiera estar detrás de la etiopatogenia del cuadro hipertensivo que caracteriza a esta enfermedad.

II.- JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

II.-JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La preeclampsia continúa siendo un problema de primera magnitud en el embarazo. Aunque la incidencia de preeclampsia es muy variable, se estima que en España alcanza entre el 2 y el 3% de todos los embarazos según el reciente documento del Grupo de Consenso sobre hipertensión en la gestación emitido por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) (54). En el Hospital "La Paz" de Madrid, la incidencia de preeclampsia en el año 1999 fue del 2,35%, lo que supone el 20,8% de todos los embarazos patológicos.

La preeclampsia es una de las complicaciones del embarazo con mayor repercusión sobre la salud materna, siendo una de las cuatro primeras causas de mortalidad de la mujer gestante en países desarrollados y en vías de desarrollo (54, 139, 140). Es también causa de morbilidad potencialmente grave, generalmente transitoria, pero con riesgo de secuelas permanentes como alteraciones hepáticas, neurológicas, hematológicas o renales (66-96, 139, 140).

Por otra parte, la preeclampsia también repercute sobre el bienestar fetal, pudiendo producir alteraciones prenatales desde retraso del crecimiento hasta la muerte fetal (139- 141). Este hecho hace que la preeclampsia constituya una de las primeras causas de prematuridad electiva, obligando al obstetra a finalizar la gestación antes de término (141).

Todas estas repercusiones maternofetales se deben a que la capacidad de detectar de forma precoz o modificar el curso de la enfermedad de la preeclampsia es todavía muy limitada, siendo la finalización de la gestación, el único tratamiento definitivo en la actualidad. Por este motivo, es el conocimiento de la preeclampsia el paso previo imprescindible para

mejorar la terapéutica de la misma. En este sentido, a medida que avanzan los conocimientos sobre la preeclampsia parece cada vez más claro que no se trata de una enfermedad única, sino de un síndrome multiorgánico originado sobre la base de vasoespasmo generalizado y alteración endotelial al que se puede llegar por la combinación de múltiples factores, no sólo el factor placentario, sino también otros factores maternos predisponentes intrínsecos y extrínsecos, que aún están en vías de investigación.

Debido a que la homocisteína es un factor demostrado de riesgo de lesión vascular, y que en la preeclampsia existe daño endotelial, el aumento de homocisteína podría ser uno de los factores directamente involucrados en el desarrollo de la preeclampsia. La determinación de los niveles de homocisteína plasmática forma parte de las pruebas realizadas en numerosos laboratorios hospitalarios, y en pocos días se puede disponer de los resultados.

Si se demuestra la existencia de hiperhomocisteinemia en la preeclampsia, podría tratarse administrando ácido fólico y vitamina B6 durante el tercer trimestre de gestación, debido a que este exceso metabólico se corregiría nutricionalmente como ya se ha expuesto en la introducción.

La búsqueda de una posible relación causa-efecto entre determinados niveles de homocisteína y el riesgo de desarrollar una preeclampsia es lo que nos ha llevado a la realización de este estudio.

III.-OBJETIVOS

III.-OBJETIVOS

- 1) Comparar las concentraciones de homocisteína plasmática de pacientes con preeclampsia durante el tercer trimestre de gestación con los de un grupo control con gestación normal.**
- 2) Determinar la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre el grupo de mujeres gestantes con preeclampsia y el grupo control.**
- 3) Comparar las concentraciones de ácido fólico intraeritrocitario y de vitamina B12 de pacientes y controles.**
- 4) Relacionar las concentraciones de homocisteína plasmática en pacientes y controles con los de ácido fólico intraeritrocitario y de vitamina B12.**
- 5) Valorar la prevalencia del tratamiento con ácido fólico en el tercer trimestre de gestación en las pacientes con preeclampsia y en el grupo control.**

IV.-PACIENTES Y MÉTODOS

IV. PACIENTES Y MÉTODOS

PACIENTES Y AMBITO DEL ESTUDIO:

Estudio transversal de 100 gestantes en el tercer trimestre de embarazo (50 con preeclampsia y 50 con gestación normal, que sirvieron como controles).

Este estudio se ha realizado en el Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario "La Paz" de Madrid, entre Enero y Diciembre de 1999.

El embarazo fue controlado en 85 pacientes de forma periódica en los centros ambulatorios del área 5 de la Comunidad de Madrid, que corresponde al Hospital "La Paz". Las 15 gestantes que no pertenecían al área, se controlaron el embarazo en otros centros de la Comunidad de Madrid (2 con preeclampsia y 11 con gestación normal), excepto 2 pacientes con preeclampsia que fueron remitidas de los hospitales de Ciudad Real y de Toledo por embarazo de alto riesgo.

VARIABLES ESTUDIADAS:

Edad materna, índice de masa corporal (IMC: peso en kg/ altura en m²), semanas de gestación en el momento del parto, tipo de parto, peso fetal, pH fetal, tratamiento con ácido fólico en el tercer trimestre del embarazo, niveles plasmáticos de homocisteína y de hematocrito, y niveles séricos de ácido fólico intraeritrocitario, vitamina B12 y creatinina.

Para la recogida de muestras, se utilizaron tubos vacutainer con tetraacetato de etilendiamina (EDTA) como anticoagulante. Se colocó inmediatamente el plasma en hielo.

procediendo a la separación del mismo antes de 4 horas, utilizando para ello una centrifuga refrigerada a 2500 rpm durante 10 minutos. De no ser así, se sesgarían los resultados ya que a temperatura ambiente los eritrocitos exportan homocisteína al plasma. Posteriormente, el plasma fue recogido cuidadosamente con una pipeta para no mezclarlo con el coágulo sanguíneo ni los eritrocitos depositados en el fondo del tubo. El plasma se congeló a -20°C y posteriormente se cuantificó la homocisteína plasmática mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), un sistema de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas con detección de fluoresceína (141). La vitamina B12 y el ácido fólico se determinaron por radioinmunoensayo (SimulTRAC-SNB; ICN Pharmaceuticals, Diagnostics Division, Orangeburg, Nueva York) y la creatinina por el método Jaffé (Boehringer Mannheim, Alemania). El hematocrito se halló mediante un CELL-DYN 4000 (Abbott Laboratories Ltd, Chicago, USA).

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES:

Hiperhomocisteinemia: Tras analizar los valores de homocisteína plasmática en 30 mujeres sanas no gestantes, que acudieron al servicio de Medicina Preventiva para un examen de salud y con edades similares a las gestantes del estudio (30 ± 4 años; rango: 21-40 años), se obtuvieron unos resultados de $6,2 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$. Como la distribución era normal, se consideró hiperhomocisteinemia cuando dichos valores eran superiores a la media más dos desviaciones estándar ($>8,3 \mu\text{mol/L}$).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Mujeres gestantes en el tercer trimestre de gestación (>28 semanas) con criterios de preeclampsia. Se definió la preeclampsia como la asociación de HTA (TAD > 90 mmHg en 2 determinaciones), proteinuria (≥300 mg/L en 24 horas) y edema.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Pacientes con gestaciones múltiples, hipertensión arterial crónica, diabetes gestacional, alteraciones renales, enfermedad renal y cardiovascular, serología positiva para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hepatitis B (VHB) o hepatitis C (VHC) y síndrome antifosfolípido. Gestantes sin control de embarazo. Gestantes con eclampsia. Gestantes mayores de 40 años. Gestaciones conseguidas mediante técnicas artificiales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Las diferencias entre variables cuantitativas se determinaron mediante la t de Student o el test de Wilcoxon, y entre las cualitativas se utilizó el test de la χ^2 o el test exacto de Fisher. El coeficiente de correlación de Pearson se utilizó para verificar la asociación estadística entre variables cuantitativas. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0.05$. Se realizó un análisis de regresión logística para determinar de manera multivariante la fuerza de la asociación entre la hiperhomocisteinemia y las siguientes variables independientes: edad, IMC, edad gestacional, creatinina, hematocrito, vitamina B12 y ácido fólico intraeritrocitario.

El método de selección de variables fue por pasos (stepwise). La magnitud de la asociación se expresa en forma de odds ratio con intervalos de confianza del 95%.

ASPECTOS ÉTICOS:

A la hora de la extracción de las muestras de sangre, todas las pacientes fueron informadas del propósito del procedimiento, consintiendo y aprobando participar en el estudio.

V.-RESULTADOS

V.-RESULTADOS

1.-CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

La edad de las gestantes con preeclampsia era de 34 ± 6 años (media \pm desviación estándar) (rango: 24-40; mediana: 33.) y la edad de las gestantes sanas de 32 ± 4 años (rango: 22-38; mediana: 30). No se encontraron diferencias significativas entre la edad de ambos grupos de gestantes ($p=0,3$) (Tabla 13) (Figura 7).

El IMC de las pacientes con preeclampsia era de $29,3 \pm 4,4$ Kg/m² (rango: 26-33; mediana 29), y la del grupo control de $27,1 \pm 5,4$ Kg/m² (rango: 25-31; mediana 27). No se observó diferencia significativa entre el IMC de ambos grupos ($p= 0,15$) (Tabla 13) (Figura 8).

En cuanto al tipo de parto, no se encontraron diferencias en el número de partos vaginales (41 frente a 44; $p= 0,61$) ni en el número de cesáreas (9 frente a 6; $p=0,26$) (Tabla 13).

En las pacientes con preeclampsia la edad gestacional del parto fue de 35 ± 4 semanas (rango: 29-40; mediana 34), mientras que en las gestantes sanas, fue de 40 ± 2 semanas (rango: 37-41; mediana 40). La comparación de las medias resultó estadísticamente significativa ($p= 0,002$) (Tabla 13) (Figura 9).

Con respecto al peso fetal, los fetos nacidos de pacientes con preeclampsia pesaron 2140 ± 82 gramos (rango: 1850-3200; mediana 2300). Los fetos nacidos de gestantes sanas pesaron 3345 ± 47 gramos (rango: 2900-3600; mediana: 3400). La comparación de las medias fue estadísticamente significativa ($p< 0,001$) (Tabla 13) (Figura 10). No se encontraron

diferencias significativas con respecto al pH fetal, tanto arterial (7.23 ± 0.06 frente a 7.31 ± 0.02 ; $p=0.07$), como venoso (7.26 ± 0.05 frente a 7.34 ± 0.03 ; $p=0.08$). (Tabla 13) (Figura 12)

En cuanto al tipo de preeclampsia, según la clasificación de la ISSHP, 39 gestantes tenían preeclampsia leve, frente a 11 gestantes con preeclampsia grave.

2-CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS

Las concentraciones de homocisteína plasmática estaban significativamente elevadas en las pacientes con preeclampsia con respecto a las gestantes normales (12.1 ± 4.2 intervalo de confianza [IC] del 95%: 11.7-12.9 frente a 5.9 ± 2.4 ; IC 95%: 5.1-7.4 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.01$) (Tabla 14) (Figura 15).

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de homocisteína y la gravedad de la preeclampsia, comparando el grupo de preeclampsia leve frente al grupo de preeclampsia grave (11.6 ± 3.7 ; IC 95%: 11.3-12.2 frente a 12.2 ± 4.1 ; IC 95%: 11.7- 12.9 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.08$) (Tabla 15) (Figura 18).

Los niveles de ácido fólico intraeritrocitario estaban estadísticamente disminuidos en las pacientes preeclámpsicas en relación a las gestantes sanas (814 ± 36 ; IC 95%: 736-892 frente a 1830 ± 70 ; IC 95%: 1467-1912 ng/ml; $p=0.03$) (Tabla 14) (Figura 16)..

Respecto a las concentraciones de vitamina B12 sérica, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos (542 ± 106 ; IC 95%: 436-604 frente a 494 ± 128 ; IC 95%: 411-624 pg/ml; $p=0.82$) (Tabla 14) (Figura 17).

Entre las gestantes preeclámpsicas, no se encontraron diferencias significativas entre los niveles de hematocrito (37.5 ± 4.2 frente a 36.7 ± 2.4 %; $p=0.17$) (Tabla 14) (Figura 13).

Tampoco existían diferencias significativas entre los niveles de creatinina sérica ($0,9 \pm 0,2$ frente a $0,8 \pm 0,4$ mg/dl; $p=0,34$) (Tabla 14) (Figura 14)..

El tratamiento con ácido fólico durante el tercer trimestre de gestación se realizó en 38 gestantes, 10 pacientes con preeclampsia y 28 pacientes del grupo control (20% frente a 44%; $p=0,02$) (Tabla 19) (Figura 22). La dosis media de tratamiento con ácido fólico de las pacientes no era diferente de la de los controles (7,3 frente a 6,3 mg/día; $p=0,4$).

Dentro del grupo de gestantes que no recibieron tratamiento con ácido fólico en el tercer trimestre ($n= 62$), 40 eran preeclámpsicas y 22 pertenecían al grupo control (77% frente a 23 %; $p= 0,01$) (Tabla 20) (Figura 23)..

En las pacientes preeclámpsicas, 10 habían sido tratadas con ácido fólico y 40 no recibieron tratamiento (20% frente a 80%; $p= 0,04$) (Tabla 21) (Figura 24). Sin embargo, en el grupo control, el porcentaje de gestantes tratadas con ácido fólico era similar al de no tratadas (56% frente a 44%; $p=0,5$).

En 39 gestantes con preeclampsia y en 9 del grupo control existía hiperhomocisteinemia (homocisteína $> 8,3$ $\mu\text{mol/L}$); (78% frente a 18%; $p=0,03$) (Tabla 16) (Figura 19).

Comparando la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre las gestantes con preeclampsia leve y preeclampsia grave, no se encontró diferencia significativa entre ambos grupos (77% frente a 82%; $p= 0,6$) (Tabla 17) (Figura 20). Sin embargo, existía diferencia significativa en cuanto a la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre las pacientes tratadas con ácido fólico en el tercer trimestre y las no tratadas (23% frente a 52%; $p= 0,04$) (Tabla 18) (Figura 21)..

La odds ratio de la hiperhomocisteinemia en las mujeres con preeclampsia era de 12,6 (IC 95%: 1,5-102,4; $p=0,008$) en comparación con las gestantes sanas. La odds ratio de las pacientes con preeclampsia grave era de 13,4 (IC 95%: 1,5-98,3; $p=0,006$) y la de las pacientes con preeclampsia leve de 12,4 (IC 95%: 1,3-102,6; $p=0,007$), comparado en ambos casos con gestantes sanas. Dentro de las gestantes con preeclampsia, la odds ratio de las pacientes tratadas con ácido fólico era de 13,0 (IC 95%: 1,4-109,6; $p=0,008$) y la de las pacientes no tratadas de 14,2 (IC 95%: 1,8-87,1; $p=0,0007$). (Tabla 22)

Se encontró una correlación inversa entre los niveles de homocisteína y los de ácido fólico intraeritrocitario tanto en las gestantes con preeclampsia ($r=-0,15$; $p=0,01$), como en las gestantes sanas ($r=-0,18$; $p=0,02$) (Figura 25).

Sin embargo, no existía correlación entre los niveles de homocisteína y los de hematocrito ($r=0,02$; $p=0,8$), creatinina ($r=0,04$; $p=0,9$) y vitamina B12 ($r=-0,05$; $p=0,1$) en las mujeres preeclámpsicas (Figura 26, 28 y 29). Tampoco en el grupo control se encontró correlación entre dichas variables.

No se encontró correlación entre los niveles de homocisteína y la edad gestacional ($r=0,03$; $p=0,7$) (Figura 27).

En el análisis multivariante, el ácido fólico fue la única variable independiente asociada a los valores de homocisteína en las gestantes con preeclampsia (odds ratio: 0,41; IC 95%: 0,156-0,912).

TABLA 13.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS PACIENTES

VARIABLE	PREECLAMPSIA n= 50	CONTROL n=50	P
Edad Materna (años)	34 ± 6	32 ± 4	0.30
IMC (kg/m²)	29,3 ± 4.2	27.1 ± 5.4	0.15
Edad gestacional (semanas)	35 ± 4	40 ± 2	0.002
Peso fetal (g)	2140 ± 82	3345 ± 47	0.0001
Tipo de parto			
Parto vaginal	41	44	0.61
Cesárea	9	6	0.26
pH Fetal			
pH arterial	7.23 ± 0.06	7.31 ± 0.02	0.07
pH venoso	7.26 ± 0.05	7.34 ± 0.03	0.08

TABLA 14.- CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LAS PACIENTES

VARIABLE	PREECLAMPSIA n=50	CONTROL n=50	P
HEMATOCRITO (%)	37,5 ± 4,2	36,7 ± 2,4	0,17
CREATININA (mg/dl)	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,4	0,34
HOMOCISTEÍNA (μ mol/l)	12,1 ± 4,2	5,9 ± 2,4	0,001
A. FÓLICO INTRAERITROCITARIO (ng/ml)	814 ± 36	1832 ± 70	0,03
VITAMINA B 12 (pg/ml)	542 ± 106	494 ± 128	0,82

TABLA 14.- CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LAS PACIENTES

VARIABLE	PREECLAMPSIA n=50	CONTROL n=50	P
HEMATOCRITO (%)	37,5 ± 4,2	36,7 ± 2,4	0,17
CREATININA (mg/dl)	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,4	0,34
HOMOCISTEÍNA (μ mol/l)	12,1 ± 4,2	5,9 ± 2,4	0,001
A. FÓLICO INTRAERITROCITARIO (ng/ml)	814 ± 36	1832 ± 70	0,03
VITAMINA B 12 pg/ml)	542 ± 106	494 ± 128	0,82

TABLA 15.- TIPO DE PREECLAMPSIA Y NIVELES DE HOMOCISTEINA

	PREECLAMPSIA LEVE N=39	PREECLAMPSIA GRAVE n=11	P
HOMOCISTEINA $\mu\text{mol/l}$	11.6 \pm 3,7	12.2 \pm 4,1	0.08

TABLA 16.- HIPERHOMOCISTEINEMIA EN PREECLAMPSIA Y GRUPO CONTROL

	PREECLAMPSIA n=50	GRUPO CONTROL n=50
HIPERHOMOCISTEINEMIA*	39 (78%)**	9 (18%)
HOMOCISTEINA NORMAL	11 (22%)	41 (82%)

*Concentración de homocisteína plasmática $>8.3 \mu\text{mol/L}$.

**p=0.03 comparado con grupo control.

TABLA 17.- HIPERHOMOCISTEINEMIA EN PREECLAMPSIA LEVE Y PREECLAMPSIA GRAVE

	PREECLAMPSIA LEVE N=39	PREECLAMPSIA GRAVE N=11
HIPERHOMOCISTEINEMIA*	30 (77%)**	9 (82%)
HOMOCISTEÍNA NORMAL	9 (23%)	2 (18%)

*Comparación de homocisteína plasmática >8.3 µmol/L

**p=0,6 comparado con pacientes con hiperhomocisteinemia y preeclampsia grave

TABLA 18.-HIPERHOMOCISTEINEMIA EN RELACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO

	TTO CON ÁCIDO FÓLICO N=48	SIN TTO CON ÁCIDO FÓLICO N=62
HIPERHOMOCISTEINEMIA *	11 (23%)	27 (52%)
HOMOCISTEÍNA NORMAL	37 (77%)	25 (48%)

TABLA 19.- GESTANTES CON TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO EN EL TERCER TRIMESTRE DE GESTACIÓN

	PREECLAMPSIA N=50	GRUPO CONTROL N=50	N
CON TTO CON A. FÓLICO	10 (20%)*	28 (44%)	38

*p=0,02 comparado con pacientes preeclámpsicas sin tto.

TABLA 20.- GESTANTES SIN TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO DURANTE EL TERCER TRIMESTRE

	PREECLAMPSIA N=50	GRUPO CONTROL N=50
SIN TRATAMIENTO CON A. FÓLICO	40 (80%)*	22 (36%)

*p= 0,01 comparado con gestantes sanas

TABLA 21.-PREECLAMPSIA EN RELACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO DURANTE EL TERCER TRIMESTRE

	CON TTO CON A. FÓLICO	SIN TTO CON A. FÓLICO	N
PREECLAMPSIA	10 (20%)	40 (80%)	50

*P= 0,04 comparado con pacientes sin tratamiento.

TABLA 22.- PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA EN LAS GESTANTES CON PREECLAMPSIA

	HIPERHOMOCISTEINEMIA	ODDS RATIO
Todos (n=50)	39 (78%)	12.6 (IC 95%: 1.5-102.4)
Con preeclampsia .-Grave	9 (81.8%)	13.4 (IC 95%: 1.5-98.3) *
 .-Leve	30 (76.9%)	12.4 (IC 95%: 1.3-102.6)*
Con preeclampsia		
-en tto con A. Fólico	11(32.3%)	13.0 (IC 95%: 1.4-109.6)*
-sin tto con A. Fólico	37(59.6)	14.2 (IC 95%: 1.8-87.1)**

La odds ratio es en comparación con las gestantes sanas

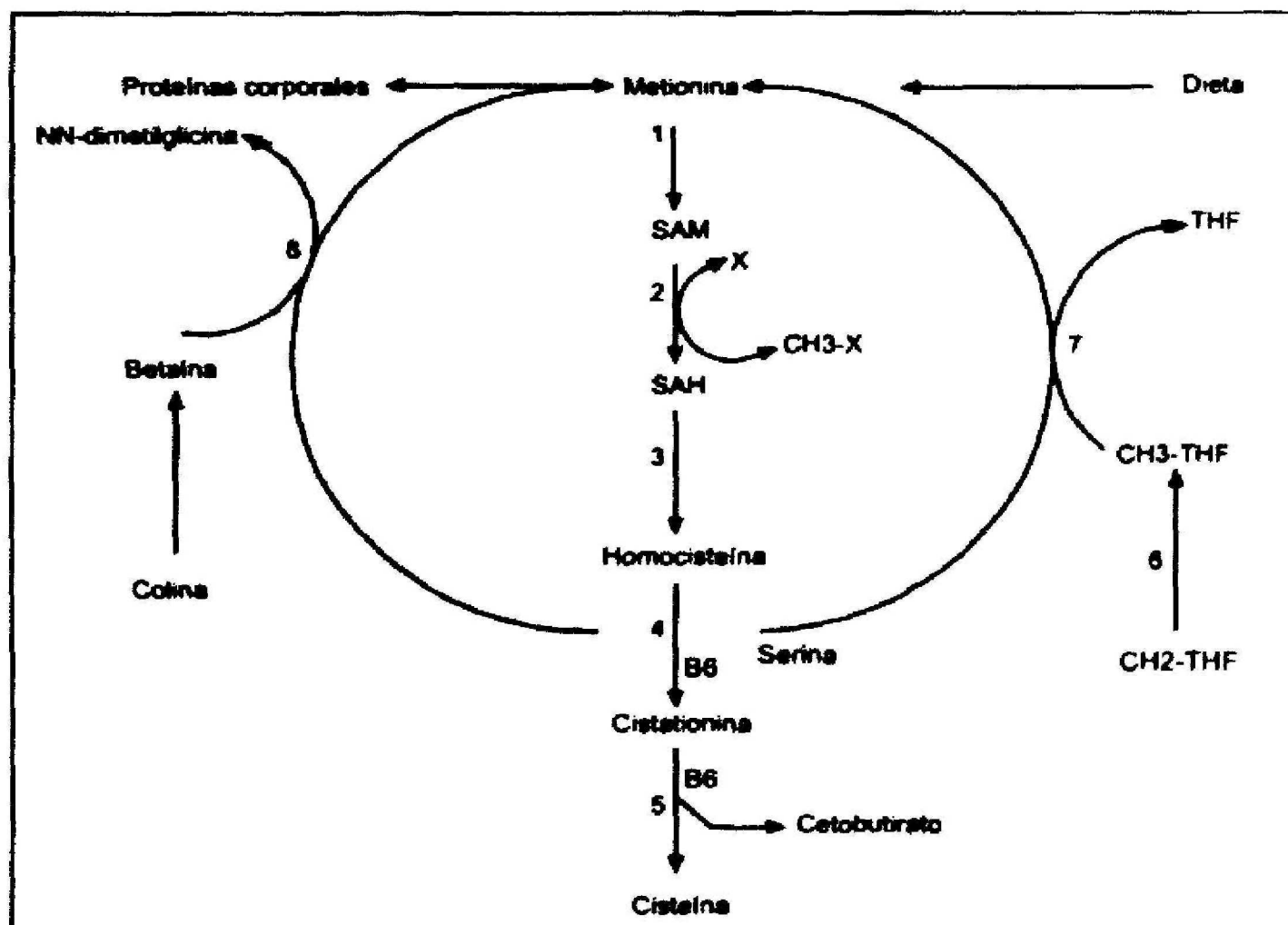
IC: Intervalo de confianza

*p≤0,01

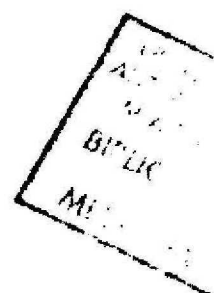
**p≤0,001

VII.-ICONOGRAFÍA

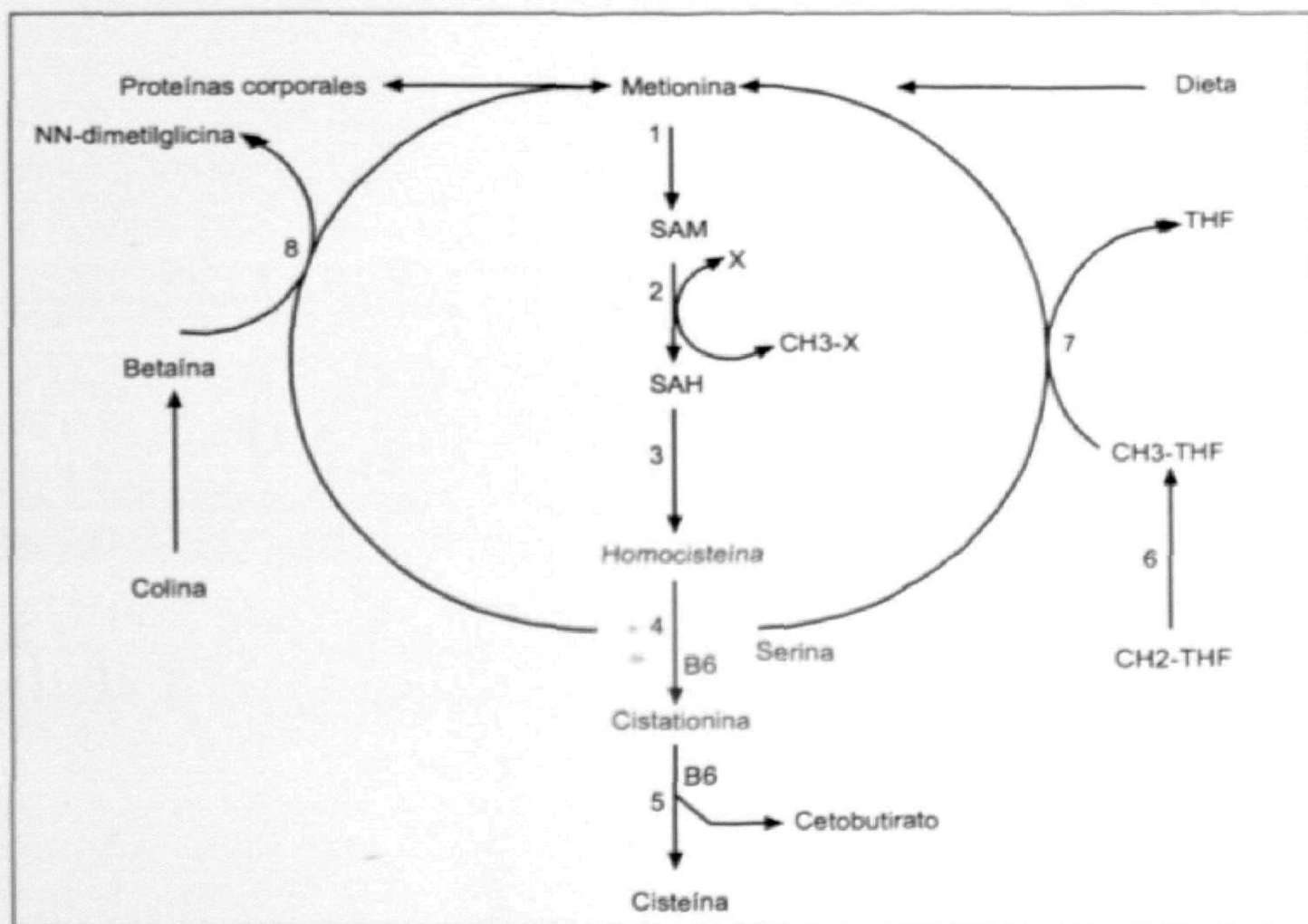
**FIGURA 1.-
METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA**



1. L-Metionina adenosil transferasa; 2. Metiltransferasa; 3. S-Adenosilhomocisteína hidrolasa; 4. Cistationina sintasa; 5. Cistationina γ -lisa; 6. Metileno tetrahidrofolato reductasa; 7. Metionina sintasa; 8. Betaina: homocisteína metiltransferasa. SAM: S-Adenosilmetionina; X: Aceptor de grupos metilos; SAH: S-Adenosilhomocisteína; THF: Ácido tetrahidrofólico.

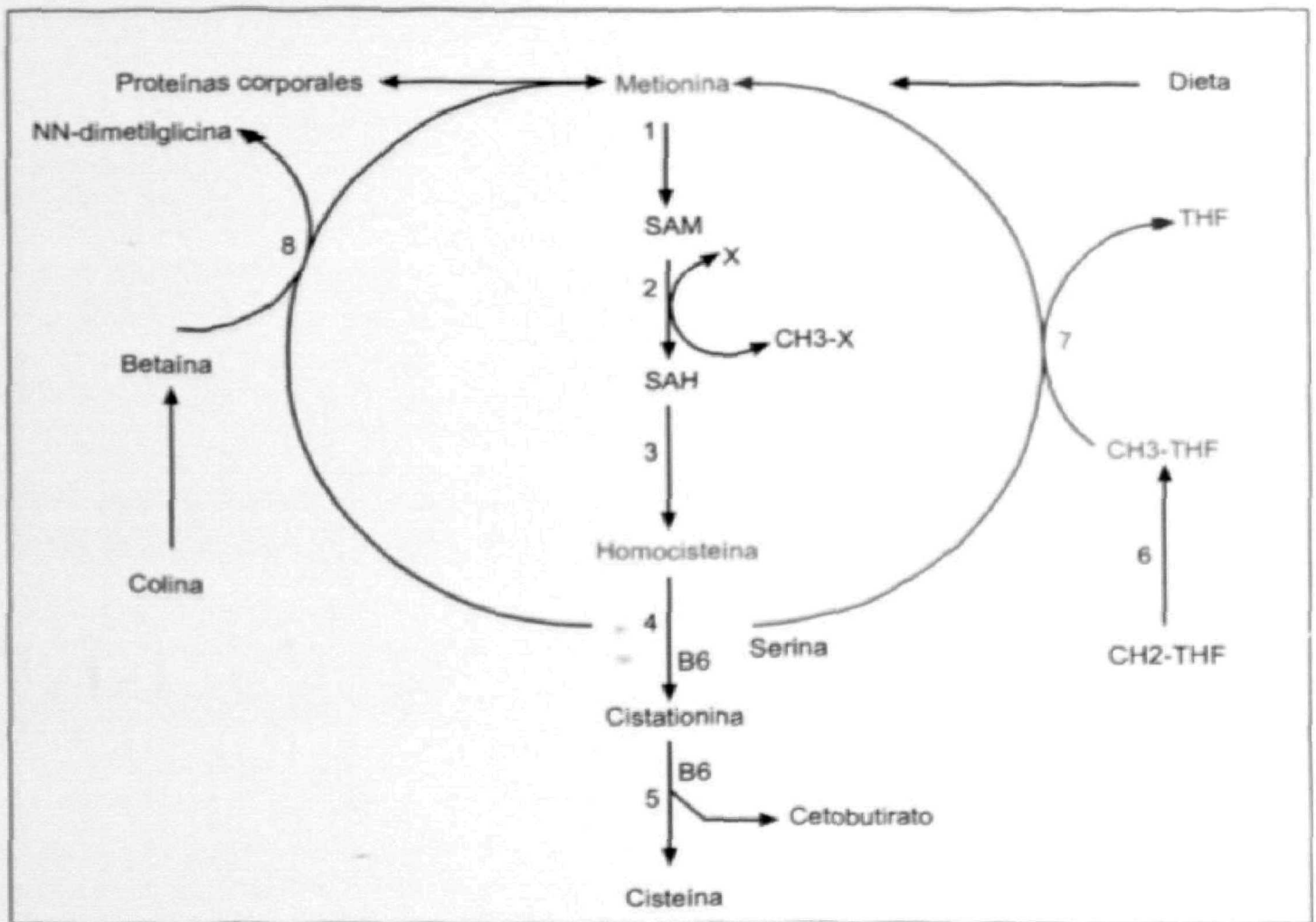


**FIGURA 2.-
METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA**



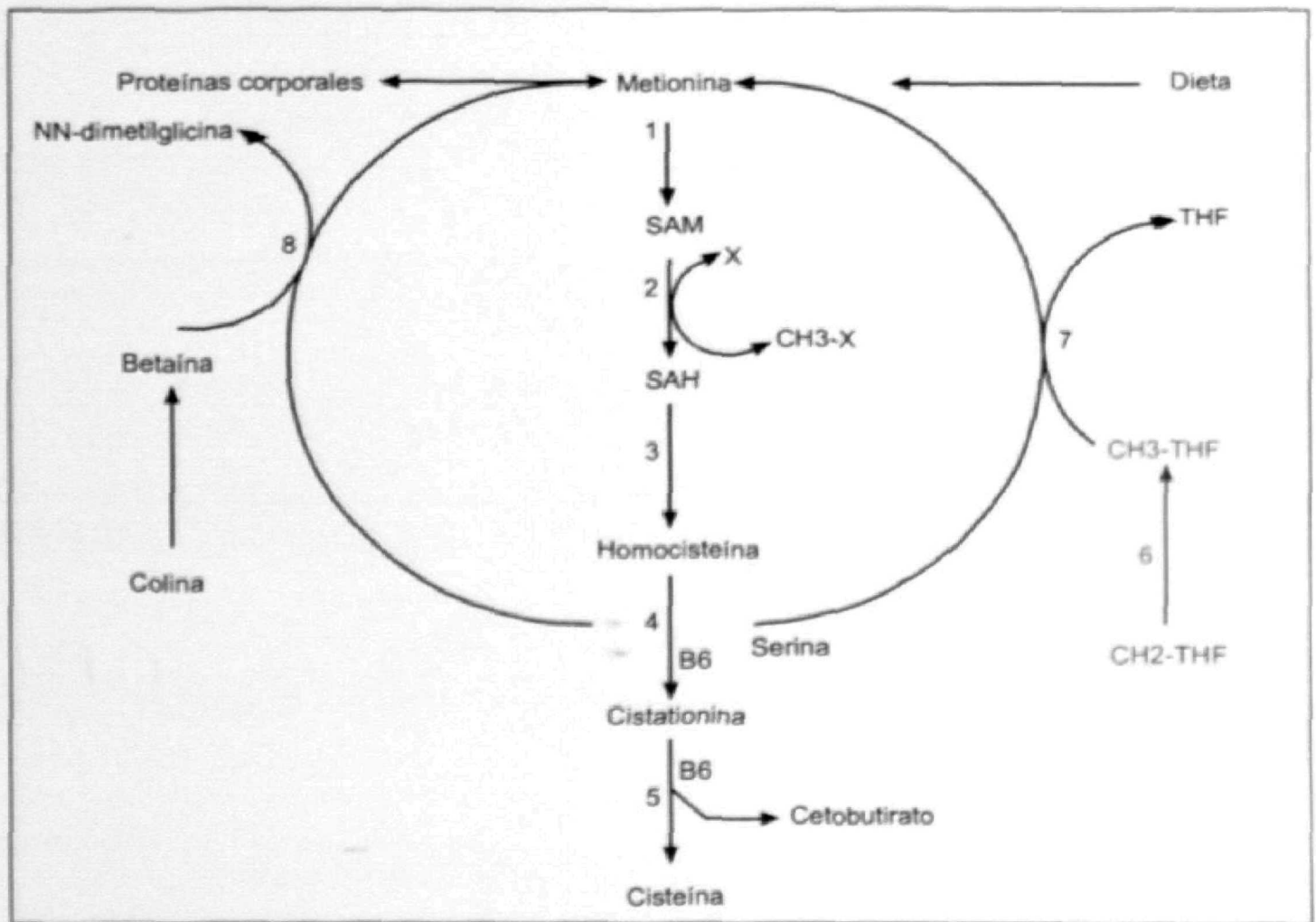
1. L-Metionina adenosil transferasa; 2. Metiltransferasa; 3. S-Adenosilhomocisteína hidrolasa; 4. Cistationinaβ-sintasa; 5. Cistationina γ-liasa; 6. Metileno tetrahidrofolato reductasa; 7. Metionina sintasa; 8. Betaina: homocisteína metiltransferasa. SAM: S-Adenosilmetionina; X: Aceptor de grupos metilos; SAH: S-Adenosil homocisteína; THF: Ácido tetrahidrofólico.

**FIGURA 3.-
METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA**



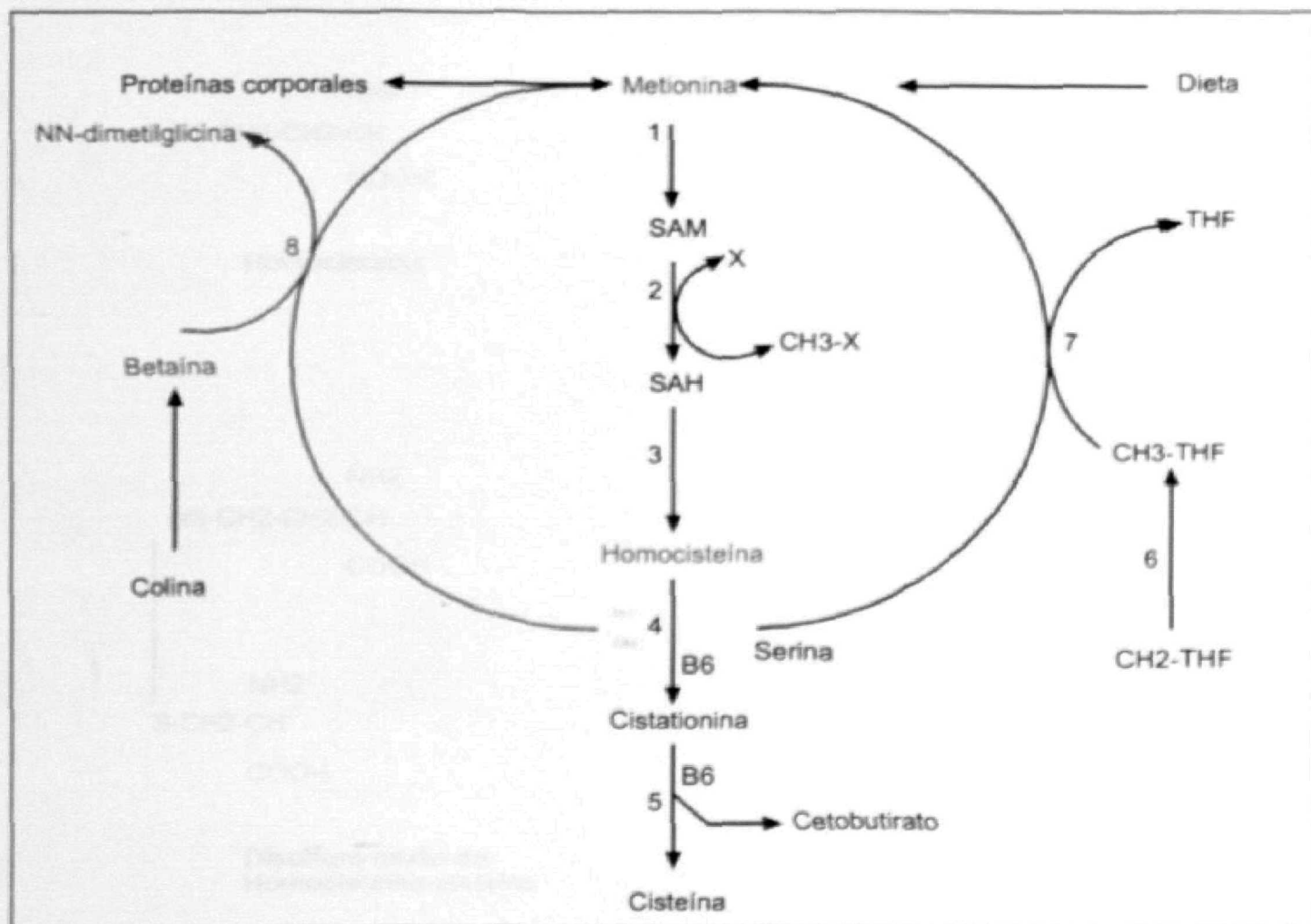
1. L-Metionina adenosil transferasa; 2. Metiltransferasa; 3. S-Adenosilhomocisteína hidrolasa; 4. Cistationinaβ-sintasa; 5. Cistationina γ-liasa; 6. Metilenotetrahidrofolato reductasa; 7. Metionina sintasa; 8. Betaina: homocisteína metiltransferasa. SAM: S-Adenosilmetionina; X: Aceptor de grupos metilos; SAH: S-Adenosil homocisteína; THF: Ácido tetrahidrofólico.

**FIGURA 4.-
METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA**



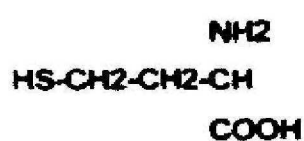
1. L-Metionina adenosil transferasa; 2. Metiltransferasa; 3. S-Adenosilhomocisteína hidrolasa; 4. Cistationinaβ-sintasa; 5. Cistationina γ-liasa; 6. Metilenotetrahidrofolato reductasa; 7. Metionina sintasa; 8. Betaina: homocisteína metiltransferasa. SAM: S-Adenosilmetionina; X: Aceptor de grupos metilos; SAH: S-Adenosil homocisteína; THF: Ácido tetrahidrofólico.

FIGURA 5.-
METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA

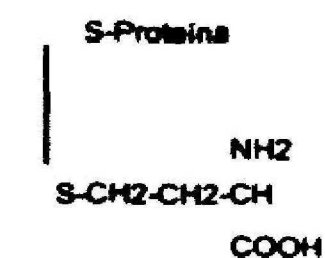


1. L-Metionina adenosil transferasa; 2. Metiltransferasa; 3. S-Adenosilhomocisteína hidrolasa; 4. Cistationina β -sintasa; 5. Cistationina γ -liasa; 6. Metilenotetrahidrofolato reductasa; 7. Metionina sintasa; 8. Betaina: homocisteína metiltransferasa. SAM: S-Adenosilmetionina; X: Aceptor de grupos metilos; SAH: S-Adenosil homocisteína; THF: Ácido tetrahidrofólico.

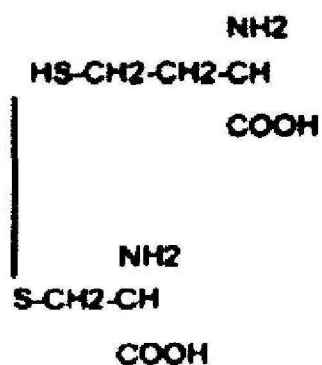
**FIGURA 6.-
FORMAS MOLECULARES DE LA HOMOCISTEÍNA**



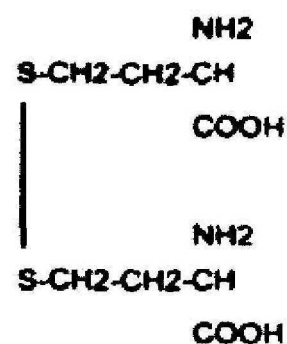
Homocisteína



**Homocisteína
ligada a Proteína**



**Disulfuro mixto de
Homocisteína-cisteína**



Homocisteína

FIGURA 7. EDAD MATERNA Y LA GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

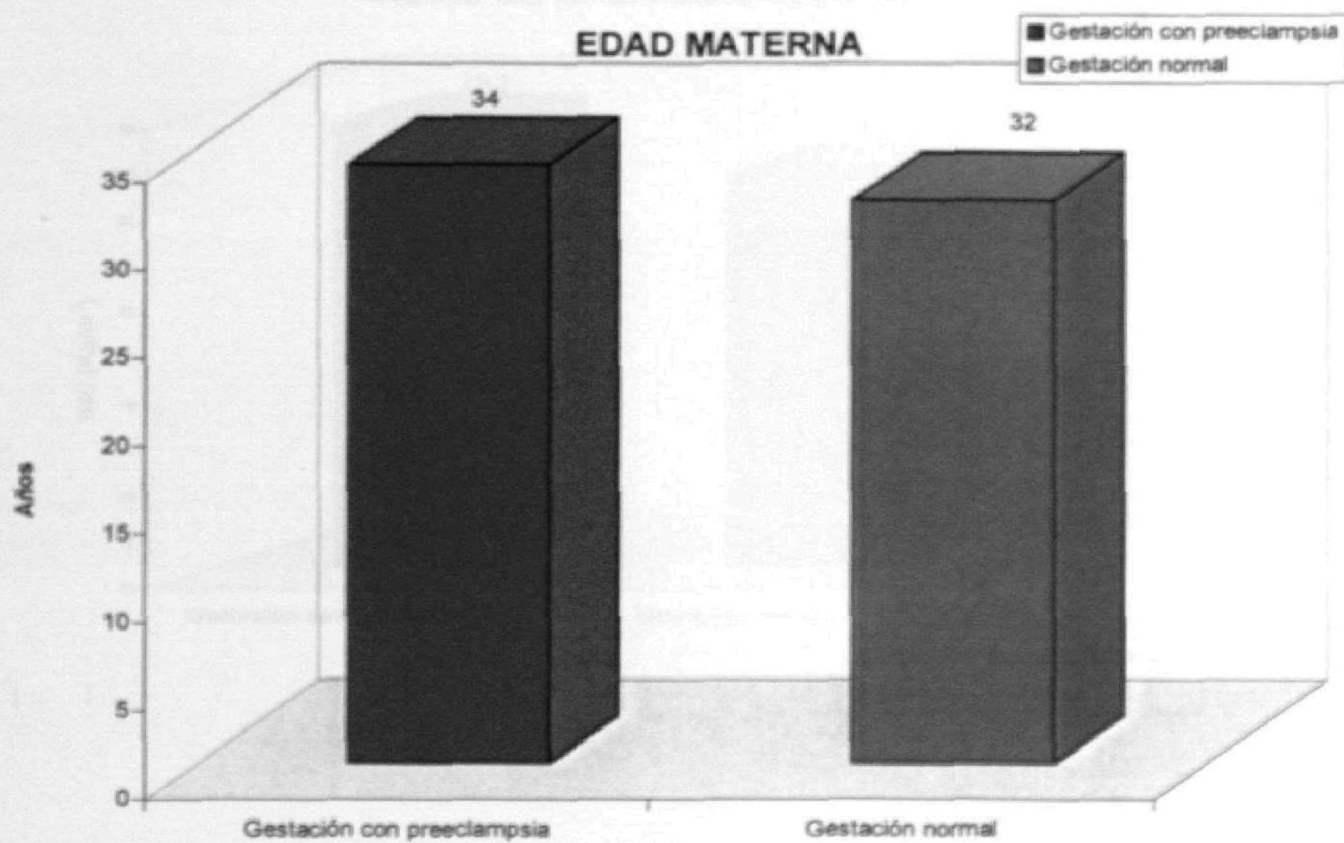


FIGURA 8.- ÍNDICE DE MASA CORPORAL Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

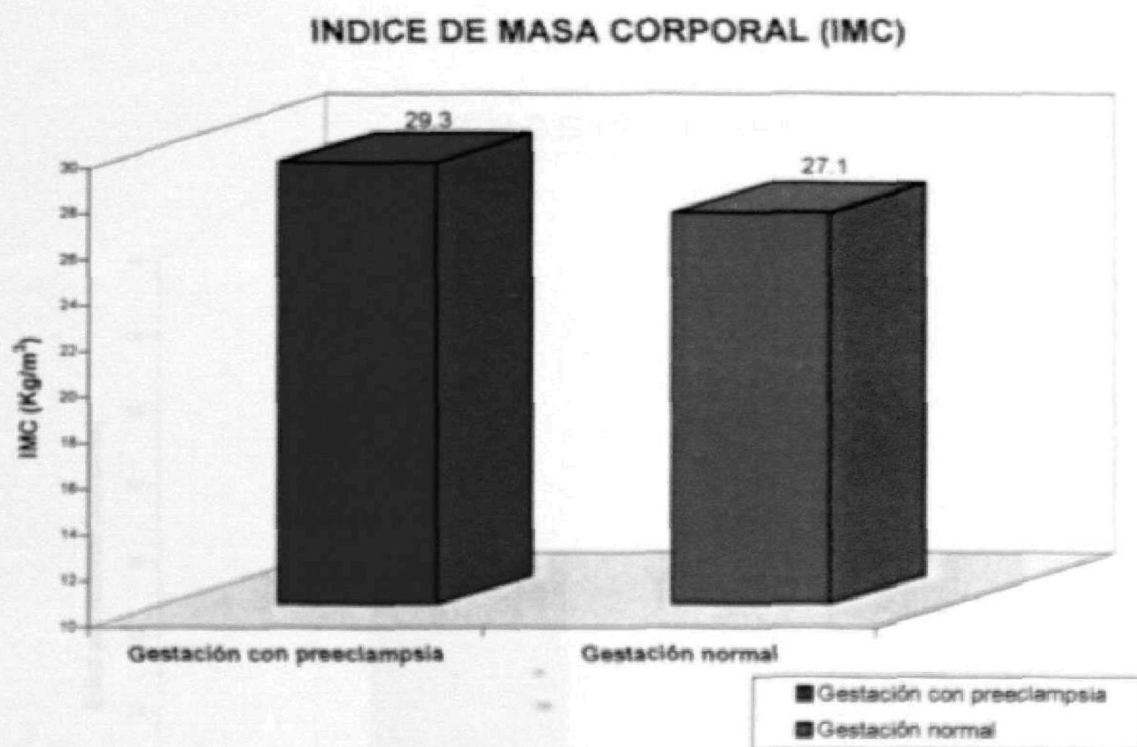


FIGURA 9.-EDAD GESTACIONAL Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

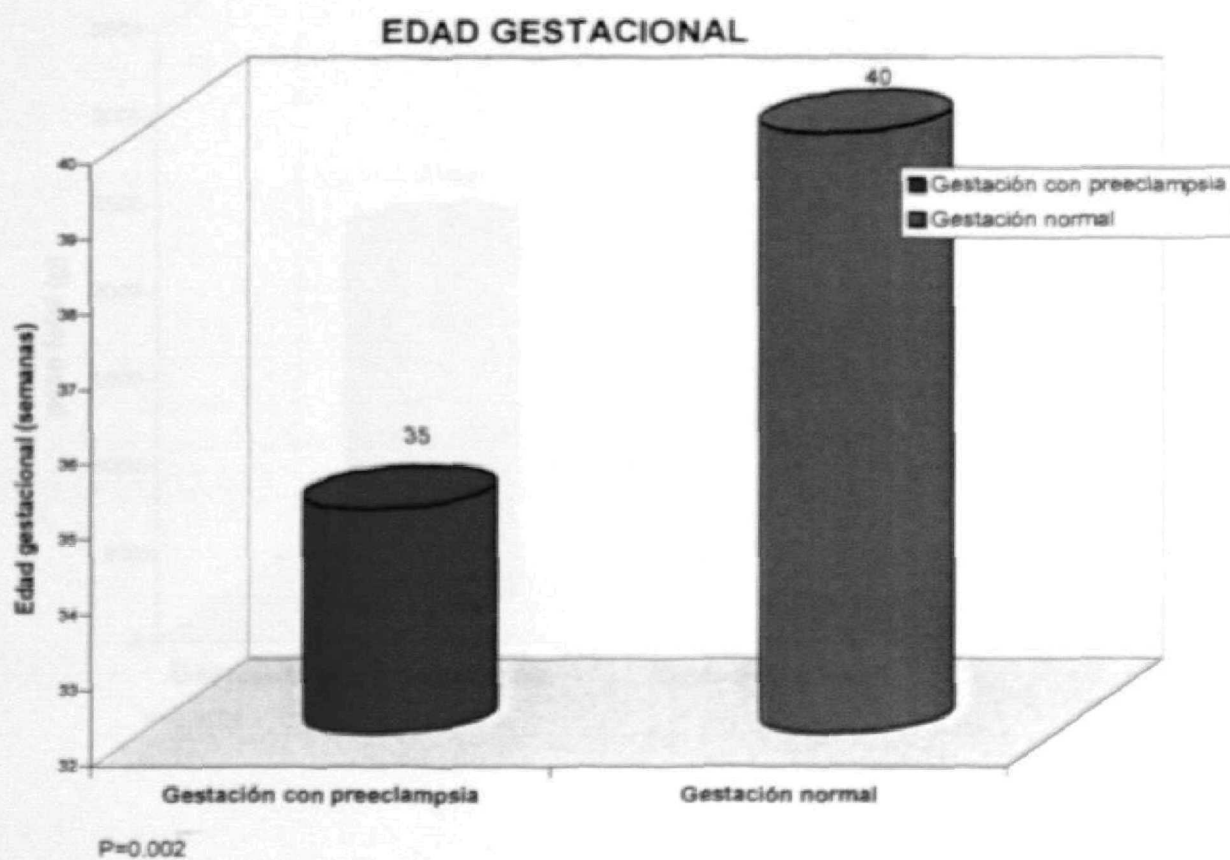


FIGURA 10.-PESO FETAL Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

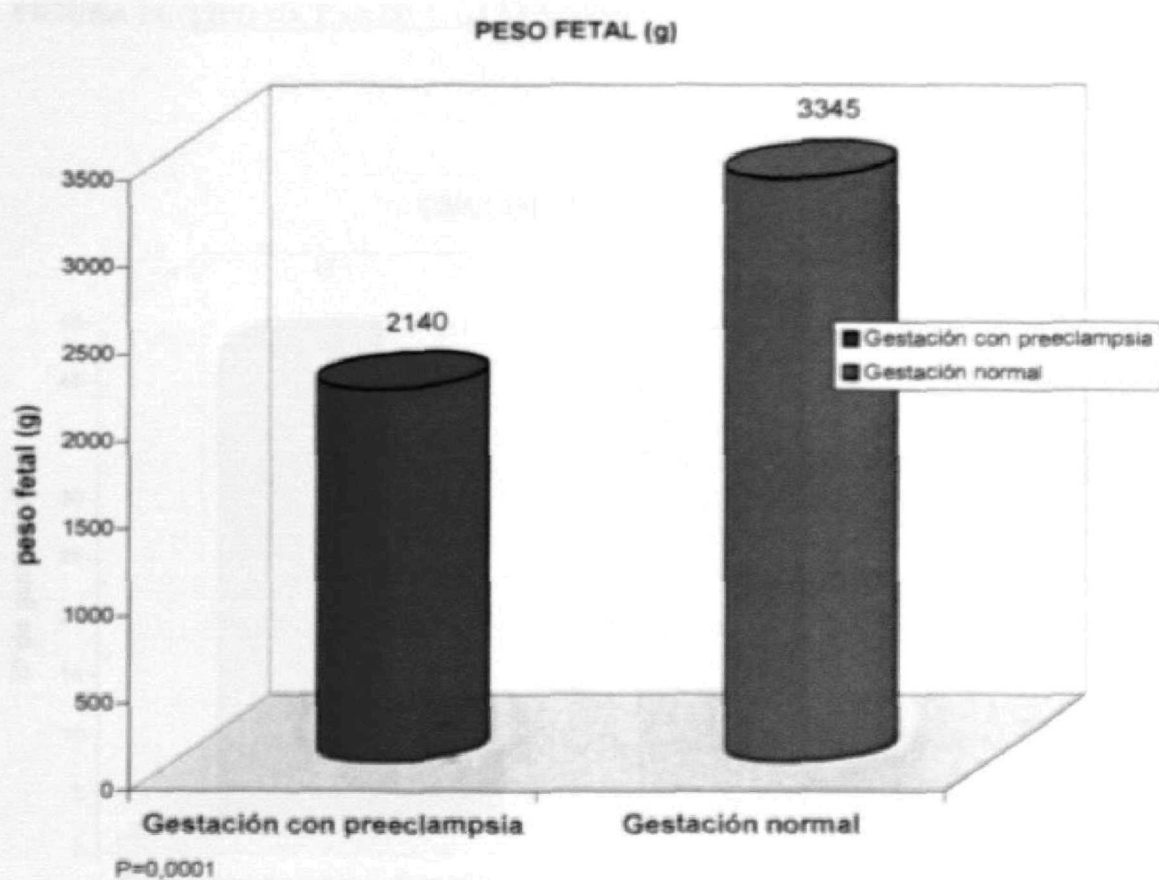


FIGURA 11.-TIPO DE PARTO Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

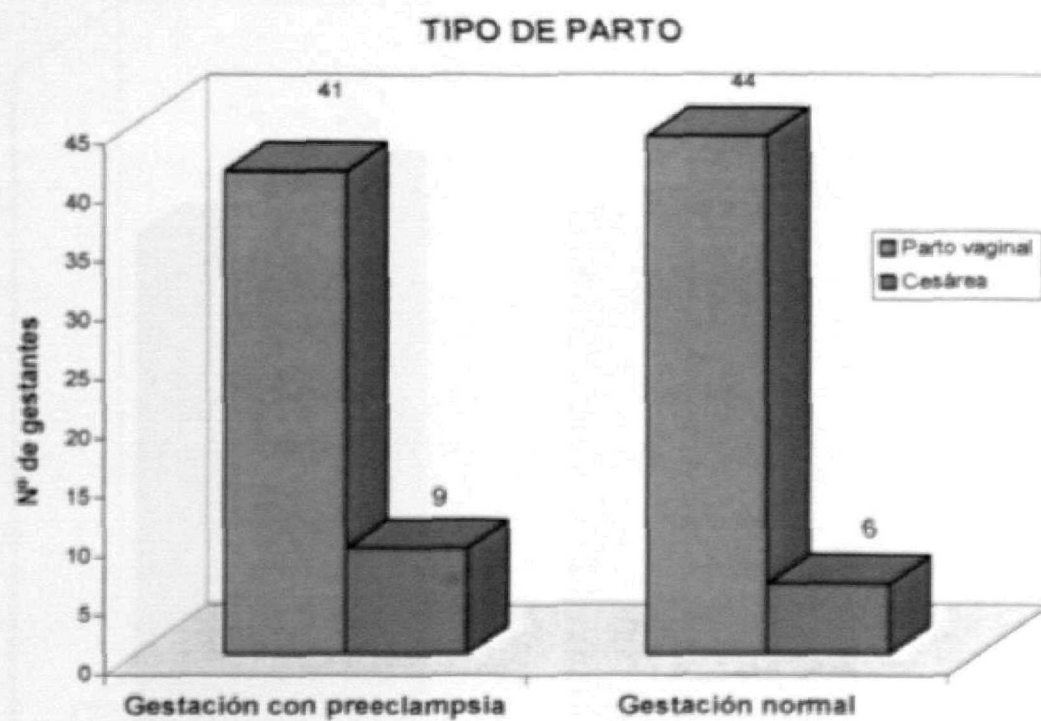


FIGURA 12.-pH FETAL Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

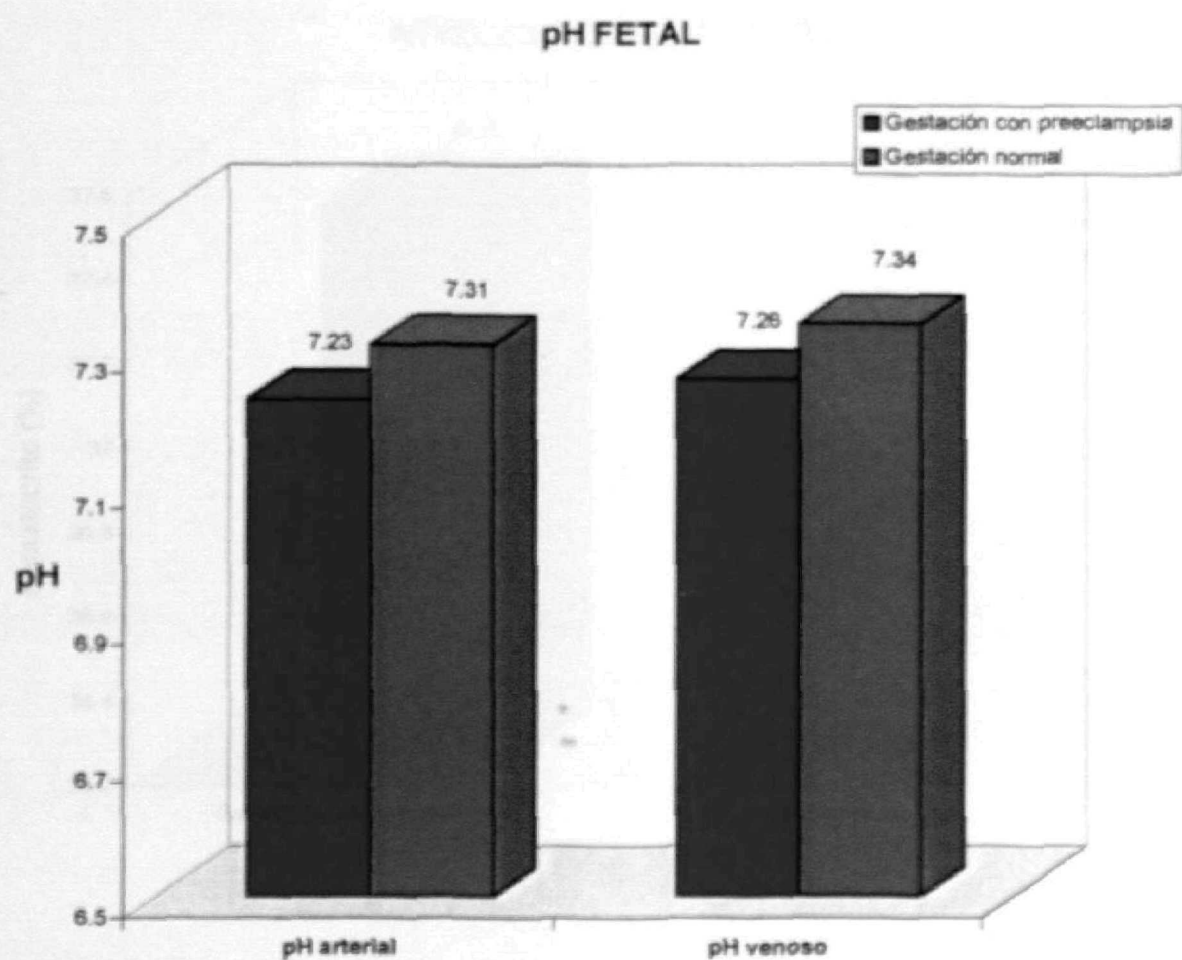
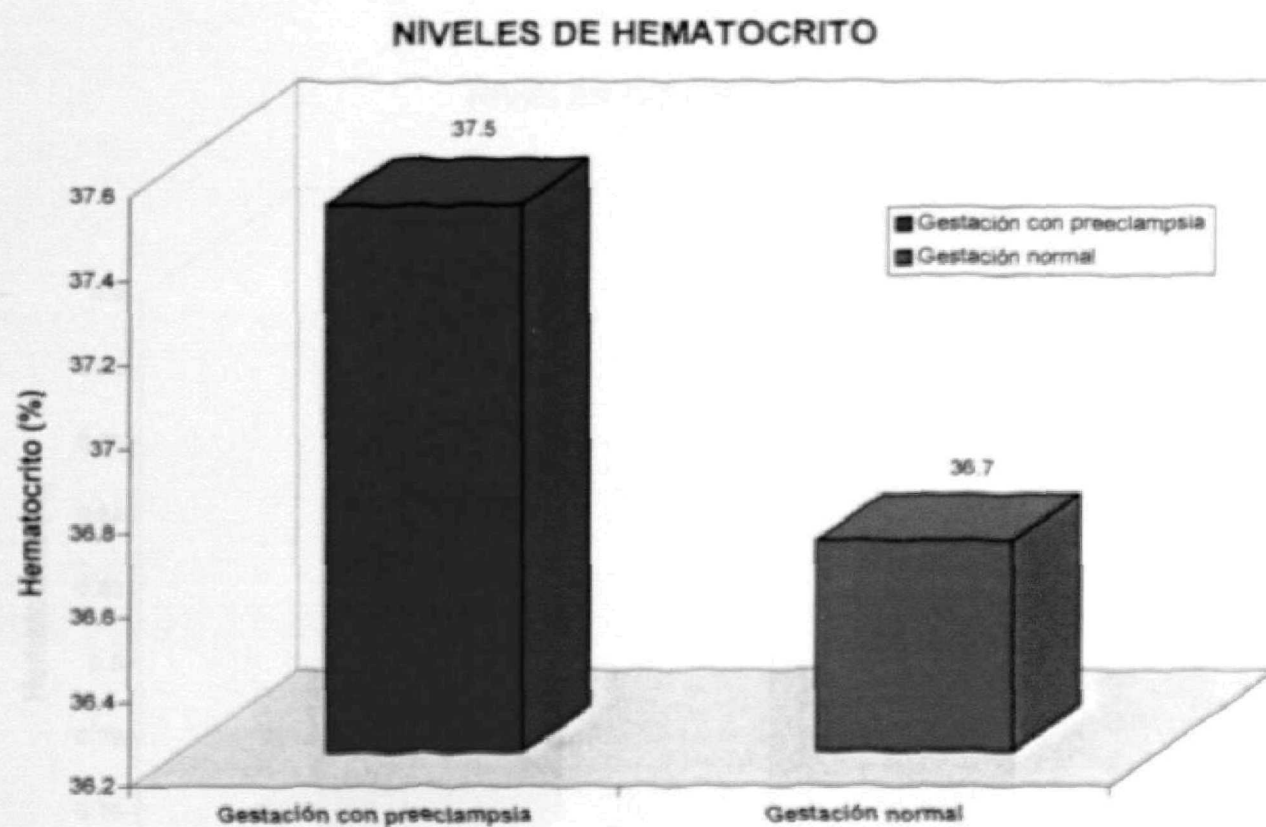


FIGURA 13.- NIVELES PLASMÁTICOS DE HEMATOCRITO Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA



**FIGURA 14.-NIVELES DE CREATININA PLASMÁTICA Y GESTACIÓN CON Y SIN
PREECLAMPSIA**

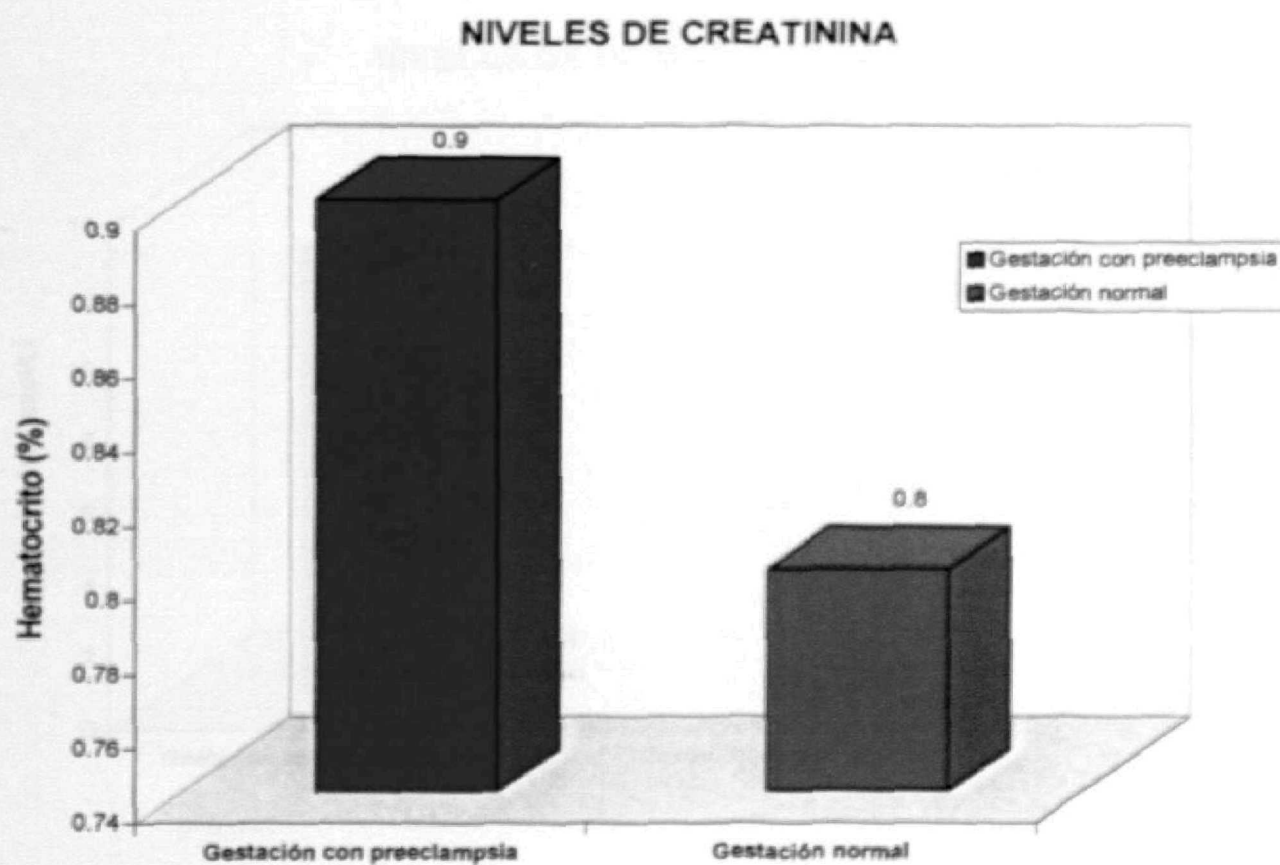


FIGURA 15.- NIVELES DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

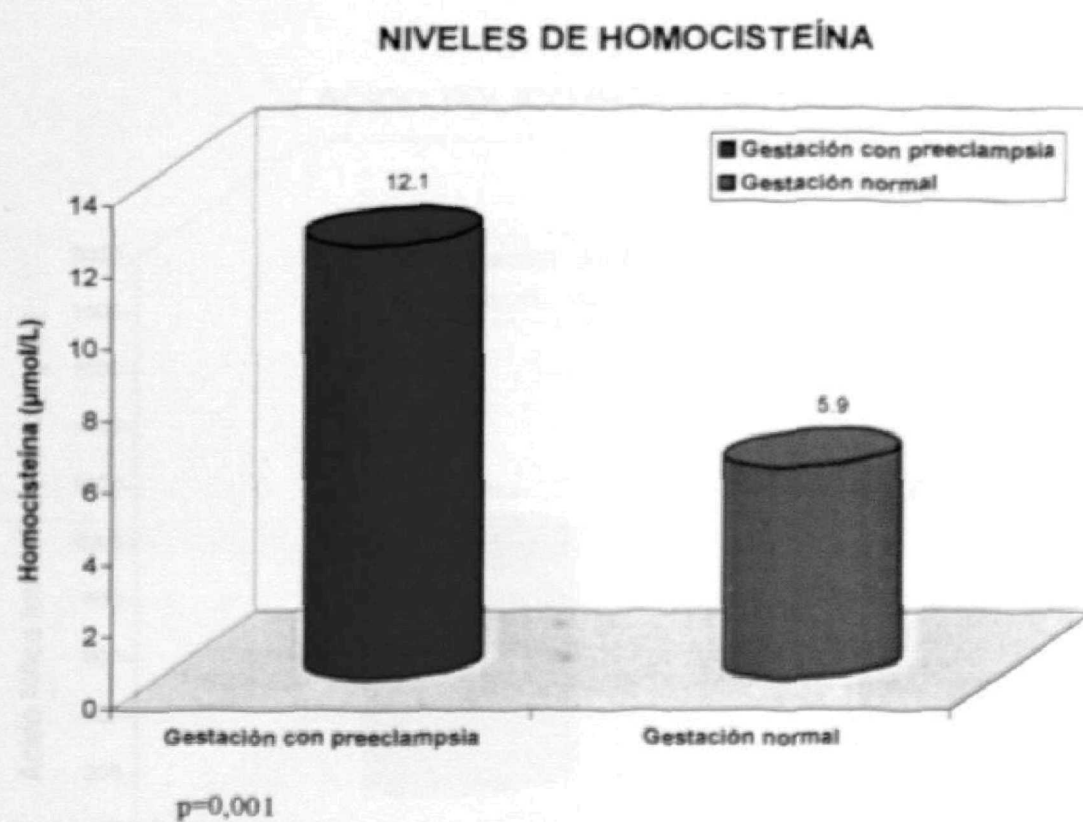


FIGURA 16.-NIVELES DE ÁCIDO FÓLICO INTRAERITROCITARIO Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

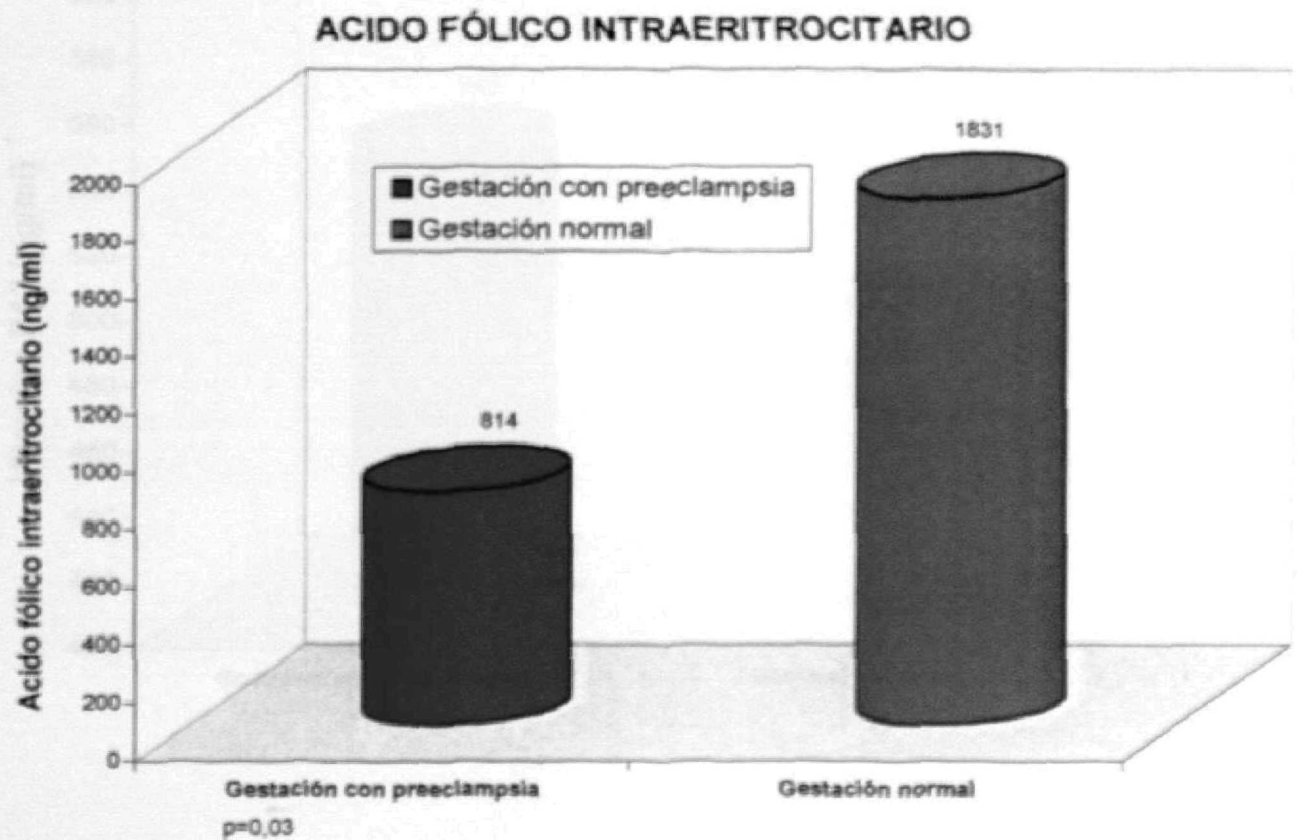


FIGURA 17.-NIVELES DE VITAMINA B12 Y GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

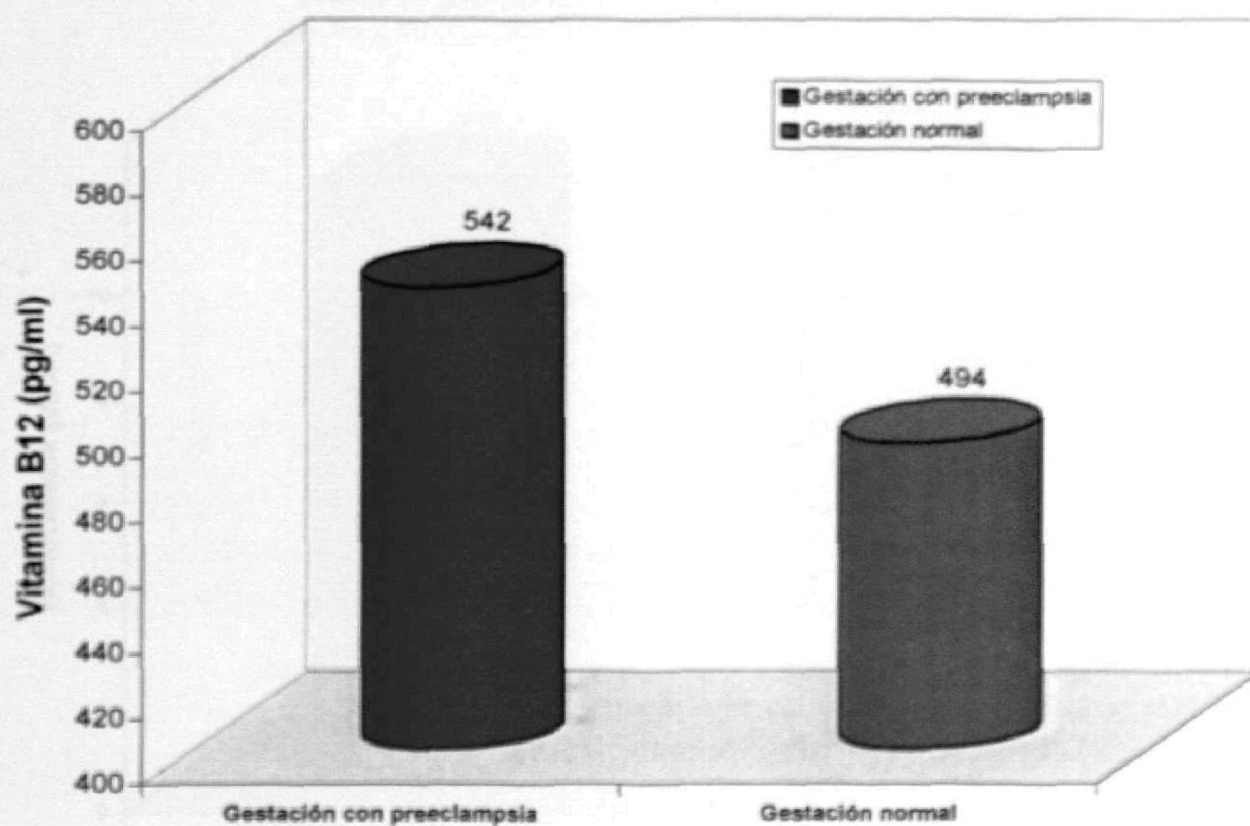


FIGURA 18.-TIPO DE PREECLAMPSIA Y NIVELES DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA

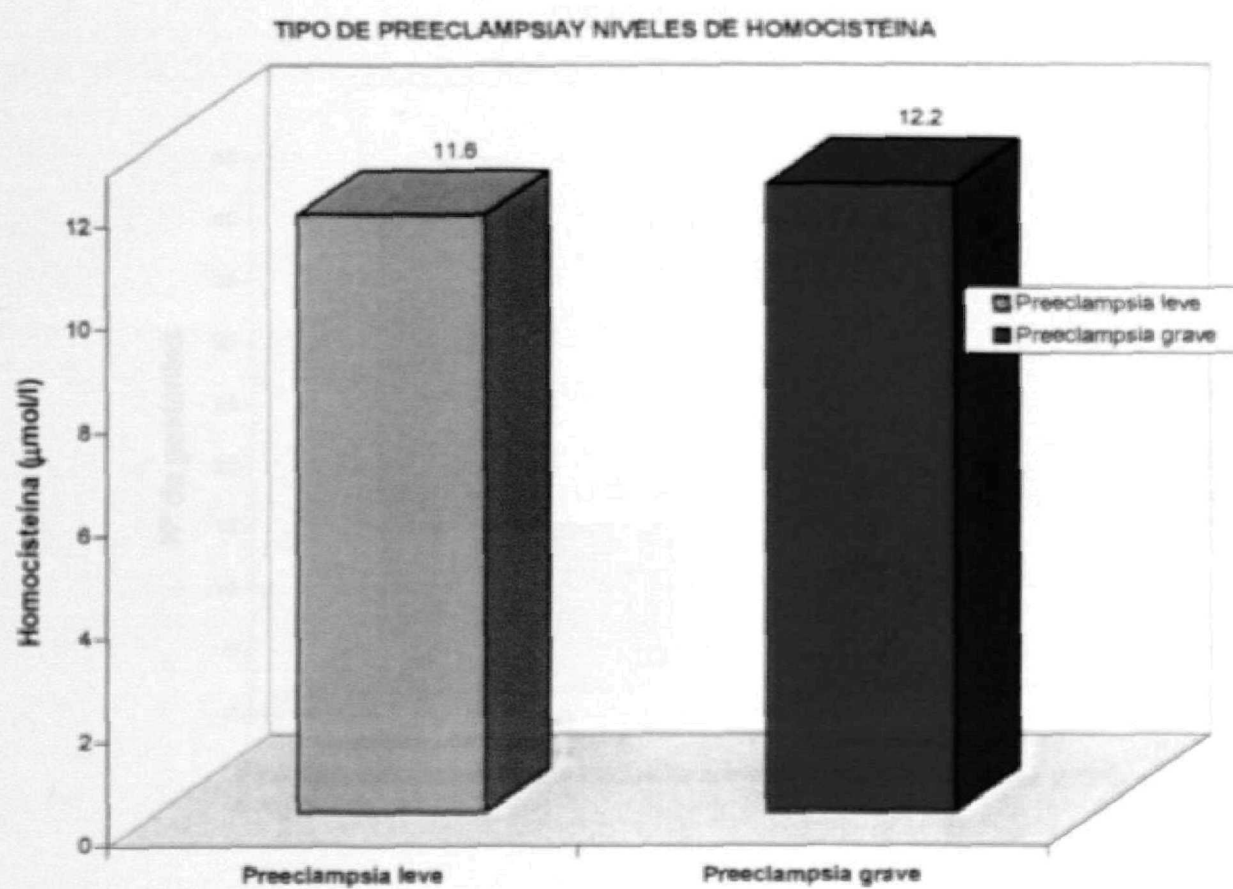


FIGURA 19.c

HIPERHOMOCISTEINEMIA EN GESTANTES CON PREECLAMPSIA Y GESTANTES NORMALES

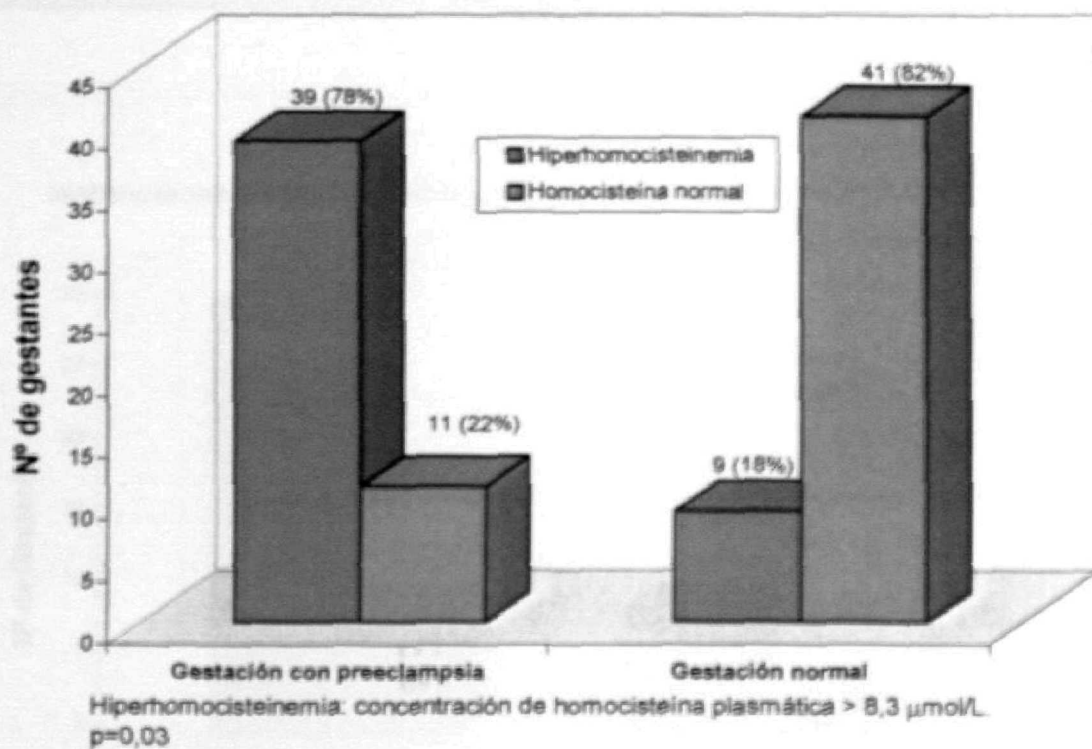
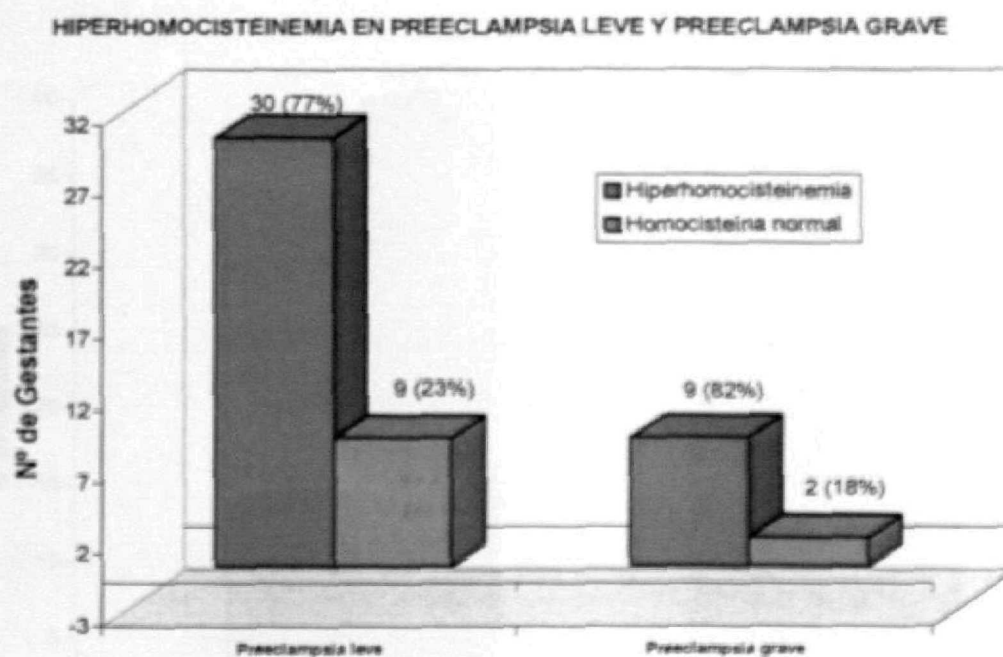


FIGURA 20.-HIPERHOMOCISTEINEMIA EN PREECLAMPSIA LEVE Y PREECLAMPSIA GRAVE



Hiperhomocisteinemia: concentración de homocisteína plasmática > 8,3 mmol/L.

FIGURA 21.-

HIPERHOMOCISTEINEMIA EN RELACIÓN CON EL TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO

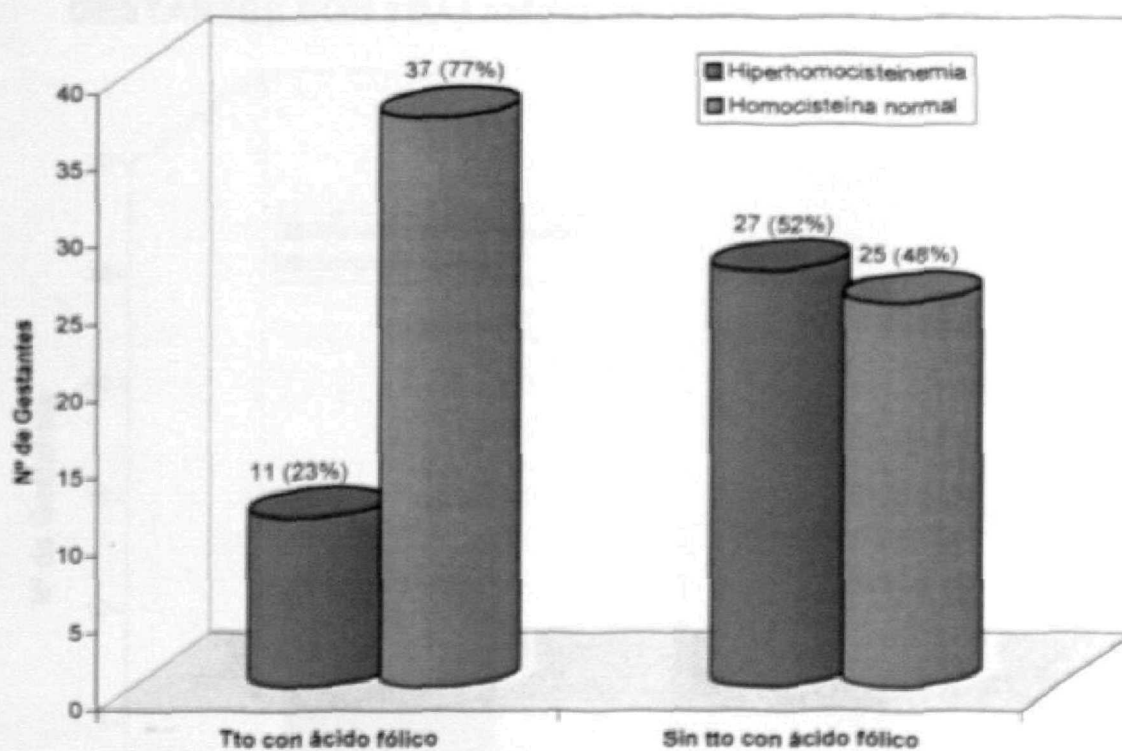


FIGURA 22.-TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO EN GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

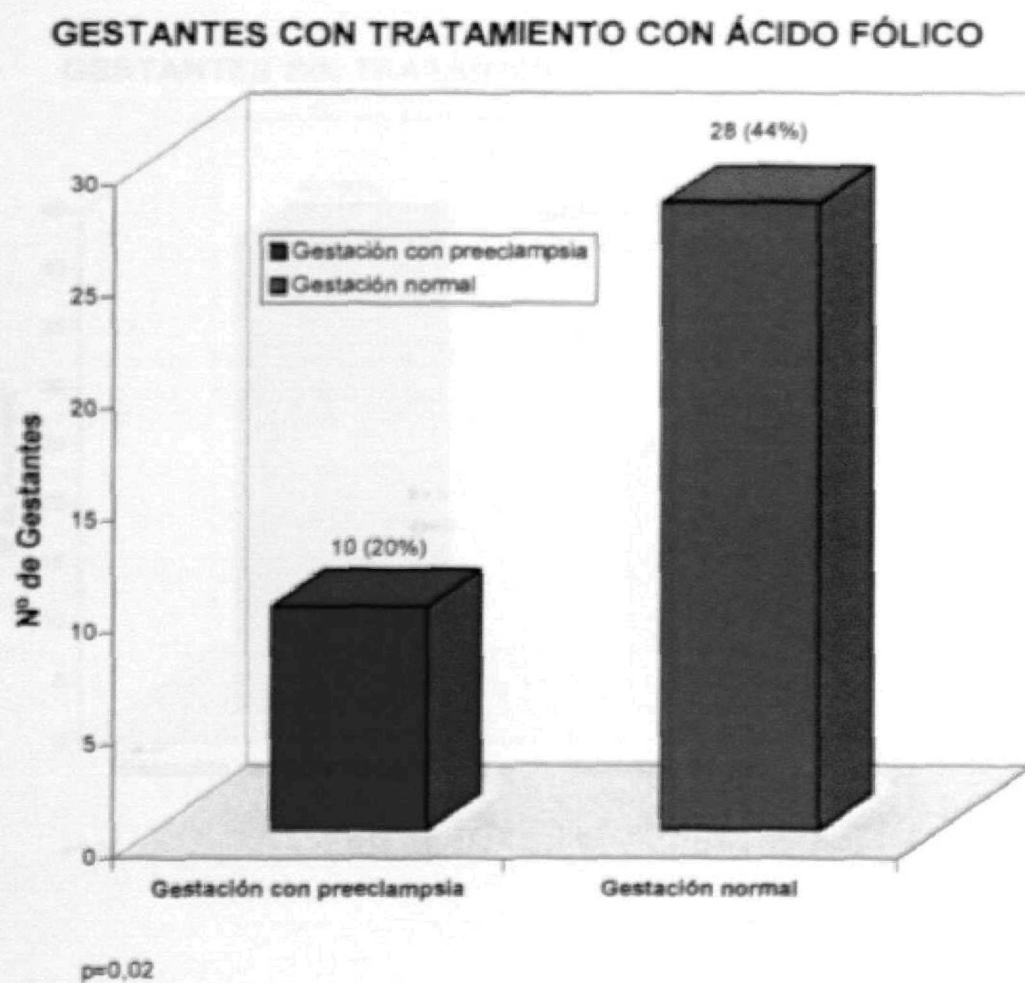


FIGURA 23.-AUSENCIA DE TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO EN GESTACIÓN CON Y SIN PREECLAMPSIA

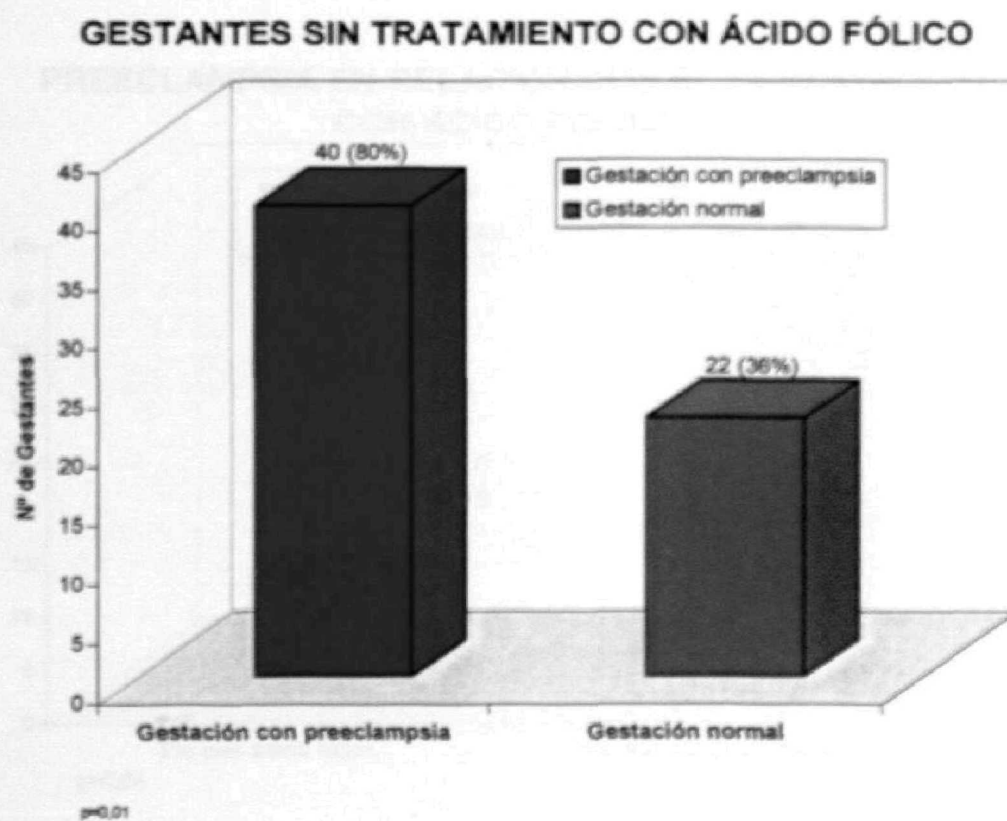


FIGURA 24.-PREECLAMPSIA CON Y SIN TRATAMIENTO CON ÁCIDO FÓLICO

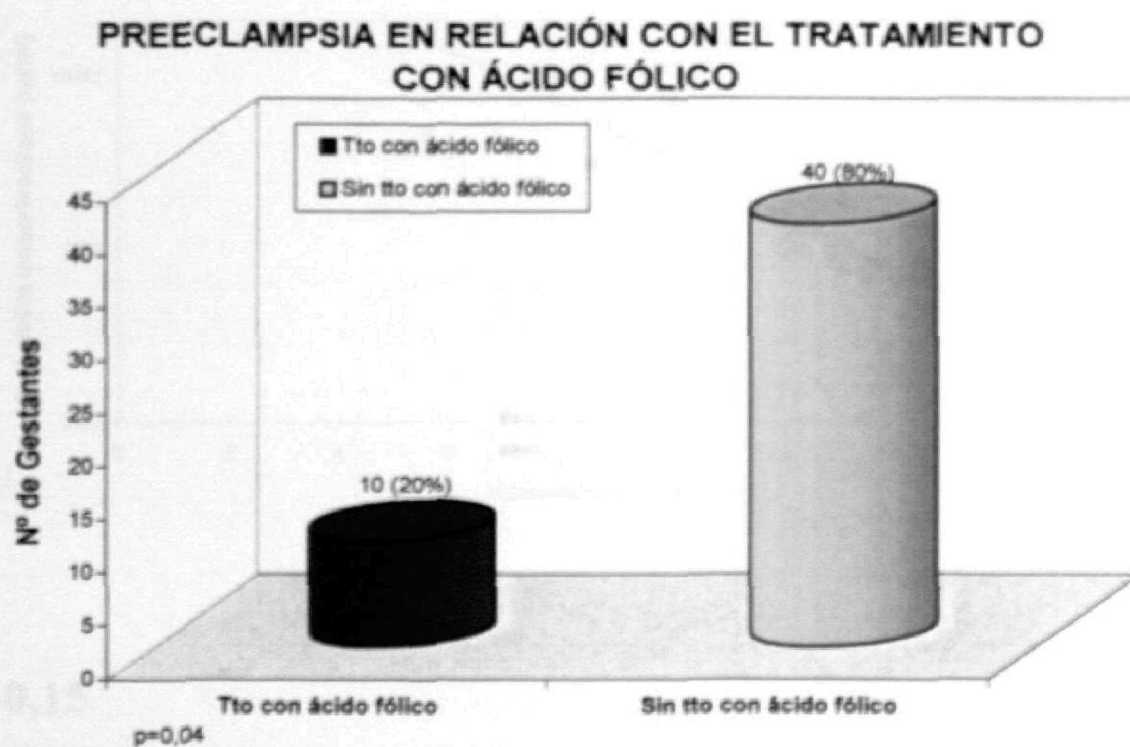
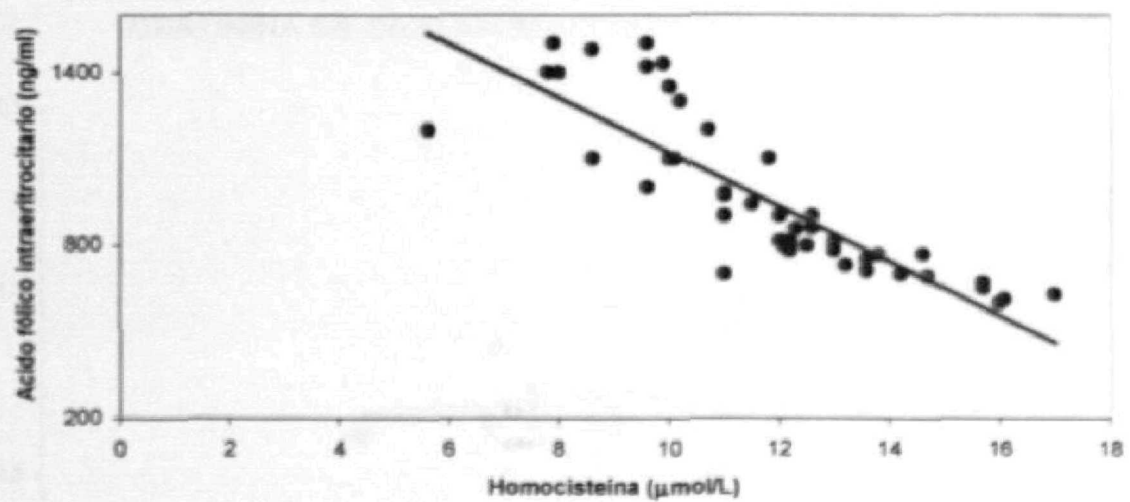


FIGURA 25.-

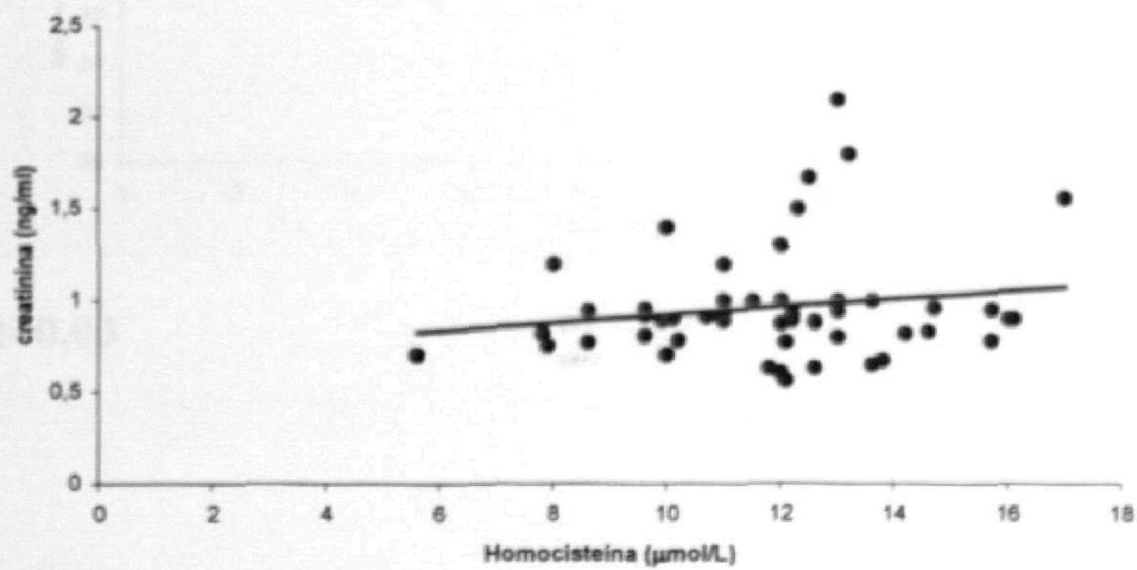
**CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y
ÁCIDO FÓLICO INTRAERITROCITARIO**



R= -0,15

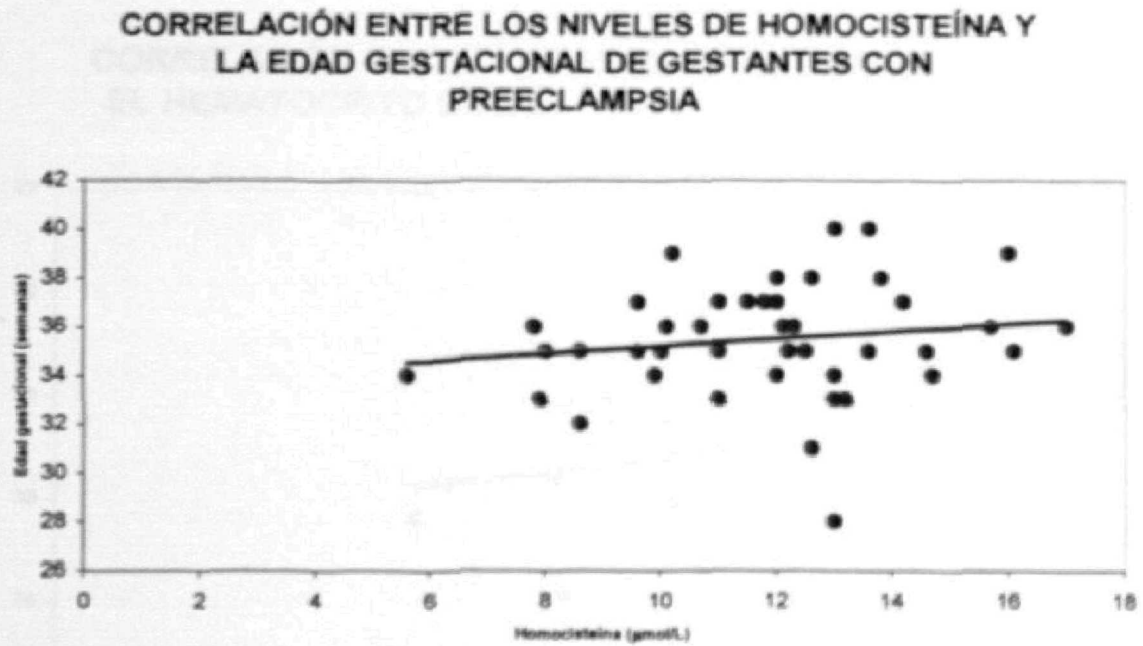
FIGURA 26.-

CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y
CRATININA EN GESTANTES CON PREECLAMPSIA



$R=0,04$

FIGURA 27.-

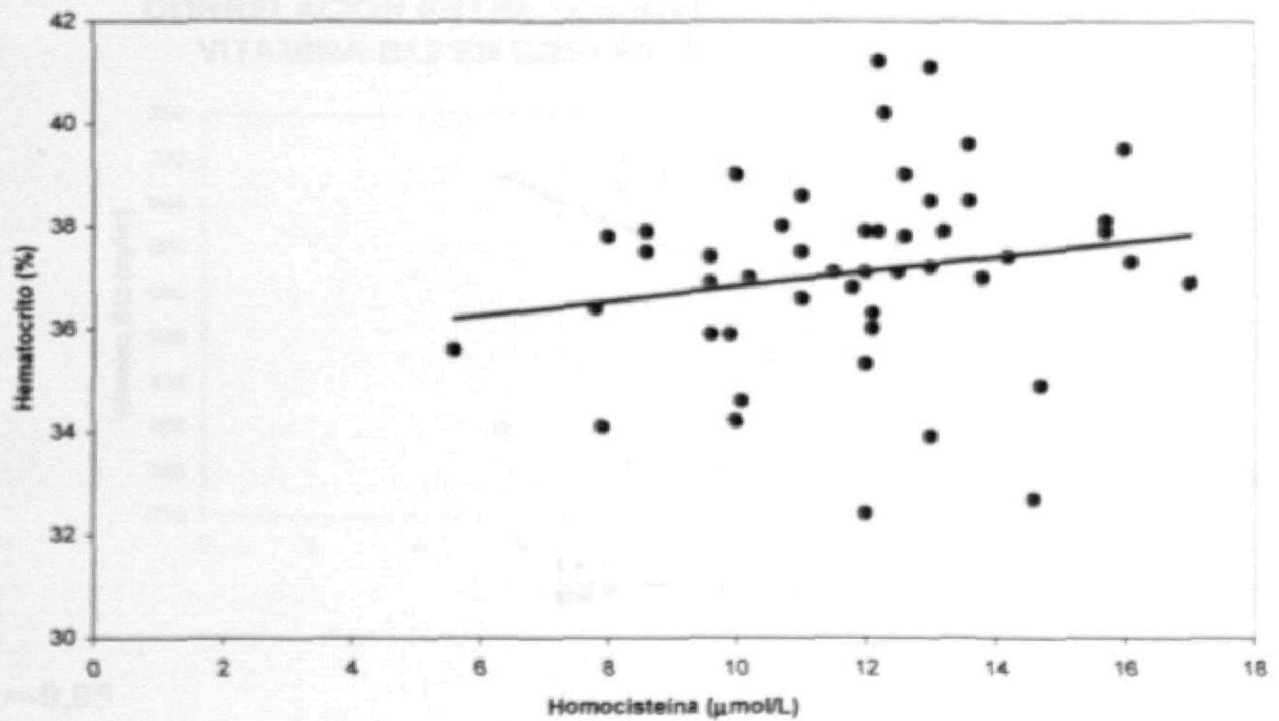


$R=0,03$



FIGURA 28.-

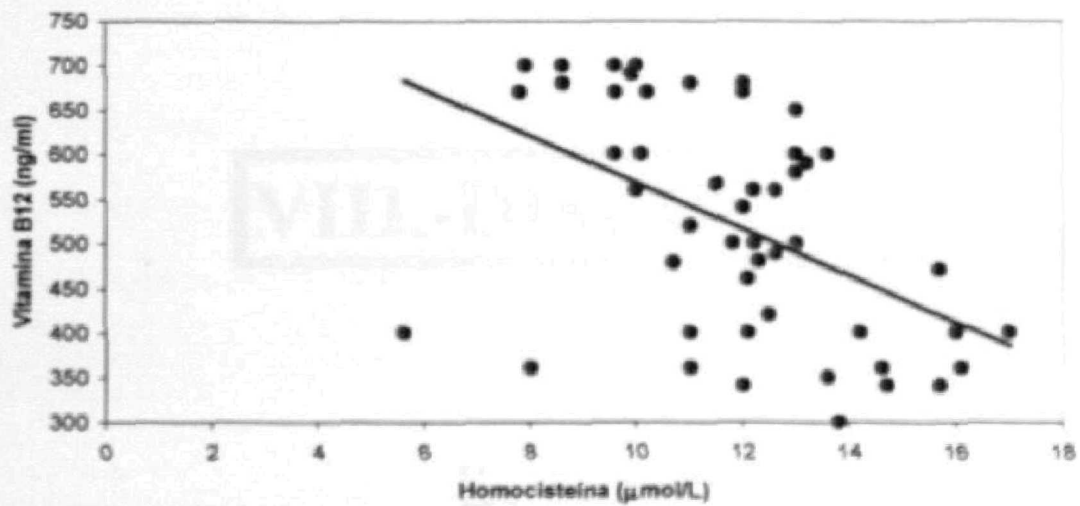
CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y
EL HEMATOCRITO DE GESTANTES CON PREECLAMPSIA



R=0,02

FIGURA 29.-

**CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y
VITAMINA B12 EN GESTANTES CON PREECLAMPSIA**



R=-0,05

VIII.-DISCUSIÓN

VIII. DISCUSION

La homocistinuria clásica, es decir, la forma homocigota de herencia autosómica recesiva debida a la deficiencia en la enzima C β S, se caracteriza por desarrollar entre otras alteraciones, una aterosclerosis prematura. Otras situaciones, como la forma heterocigota de deficiencia de C β S, el déficit de MTHFR, la deficiencia de folato ó vitamina B12 ó B6, causan elevación de la homocisteína plasmática, pero no suele ser lo suficientemente elevada como para ocasionar aumento de la homocisteína en orina. Por esta razón, Malinow et al (142), sugirieron el término de "hiperhomocisteinemia leve" para definir niveles de homocisteína plasmática aumentados transitoriamente o de forma persistente pero con una elevación escasa.

La "hiperhomocisteinemia leve" ha sido reconocida como un factor de riesgo independiente para enfermedad vascular en personas no gestantes (1, 30-43, 47, 142-144). Sin embargo, recientemente en mujeres gestantes también se ha demostrado una asociación entre "hiperhomocisteinemia leve" y riesgos gestacionales. Estos riesgos pueden ser debidos a toxicidad embrionaria produciendo defectos del tubo neural en el feto. Probablemente estos defectos estén en relación con una disminución del metabolito del SAM, que produce hipometilación del DNA y alteración de los genes implicados en el cierre del tubo neural (145-148).

Otros riesgos gestacionales son debidos a una toxicidad vascular, produciendo abortos de repetición, infartos placentarios o desprendimientos prematuros de placenta (149-153). Los mecanismos por los que la hiperhomocisteinemia causaría estos últimos efectos, podrían ser

comunes a los factores que causan trombosis, ya que otras alteraciones de la coagulación, como la deficiencia de las proteínas C y S, la presencia de anticardiolipina o del factor V Leiden, también son frecuentes en estas pacientes (154-156).

El aumento de los niveles de homocisteína plasmática causa daño endotelial contribuyendo a la patogénesis de la preeclampsia. El endotelio vascular de las gestantes es más sensible a las agresiones externas, con lo que una moderada elevación de los niveles de homocisteína puede producir daño endotelial con subsiguiente activación de varios factores trombogénicos (111). Así se ha puesto de manifiesto en el presente estudio, donde se encontraron niveles significativamente más elevados de homocisteína en pacientes con preeclampsia respecto al grupo control de embarazadas. De igual forma, en nuestra serie se objetivó una mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con preeclampsia en comparación con el grupo control. Radjkovic et al (111), también encontraron un aumento significativo de los niveles de homocisteína en las embarazadas con preeclampsia, pero en su estudio sólo incluyeron pacientes nulíparas, contrastando con nuestra serie donde no se tuvo en cuenta la paridad de las pacientes. Dekker et al (154) hallaron niveles aumentados de homocisteína plasmática en puérperas con historia de preeclampsia durante el embarazo, sin tener en cuenta la paridad de las pacientes. Sin embargo, el 39% de estas embarazadas tenían historia previa de hipertensión crónica.

También se ha relacionado el crecimiento intrauterino retardado (CIR) con una posible lesión vascular del lecho placentario (156), por lo que varios estudios han tratado de buscar niveles aumentados de homocisteína en puérperas que habían dado a luz niños con CIR, sin encontrar diferencias significativas respecto a grupos controles (157, 158). Hasta el momento no se ha publicado ningún estudio relacionando los niveles de homocisteína con el desarrollo de CIR en gestantes en lugar de puérperas.

Los elevados niveles de homocisteína en pacientes con preeclampsia no se explican por un fallo renal, puesto que en nuestro estudio no se observaron diferencias en las concentraciones de creatinina plasmática. Tampoco se justifica la hiperhomocisteinemia por una hemoconcentración sanguínea, ya que el hematocrito era similar en ambos grupos estudiados.

La prematuridad de los partos en las gestantes con preeclampsia con respecto a las gestantes sanas tampoco explica el aumento de homocisteína plasmática, ya que no se encontró correlación entre los niveles de homocisteína y la edad gestacional, tanto en las gestantes preeclámpsicas como en las sanas. En un estudio realizado por Anderson et al (159), se concluye que los niveles de homocisteína permanecen estables durante el tercer trimestre de gestación. Según el mismo estudio, las concentraciones de homocisteína disminuyen en el primer trimestre, alcanzando su máximo en el segundo trimestre y permaneciendo estables hasta el final de la gestación, y disminuyendo entre 2 y 4 días después del parto (159).

En otro trabajo se describe una disminución de los niveles de homocisteína durante todo el embarazo con respecto a mujeres no gestantes (160). Las posibles razones para explicar la disminución de la homocisteína durante la gestación podrían ser la hemodilución y el aumento de remetilación de la homocisteína debido a una mayor demanda de metionina por parte del feto (159). En nuestro estudio, sin embargo, los niveles de homocisteína en gestantes sanas fueron similares a los de las mujeres no gestantes de las que se obtuvieron los valores de referencia.

Los niveles de ácido fólico intraeritrocitario se encontraron significativamente más disminuidos en pacientes con preeclampsia, existiendo una correlación inversa entre dichos niveles y los de homocisteína. Resultados similares encontraron Rajkovic et al (111). La explicación a este hecho está en el propio ciclo de la homocisteína, ya que cuanto menor es la

cantidad de ácido fólico, menor síntesis de ácido tetrahidrofólico y menor remetilación de homocisteína a metionina, aumentando así los niveles de homocisteína plasmáticos. Fernández-Miranda et al (161) también encontraron una correlación inversa entre los niveles de ácido fólico y las concentraciones de homocisteína en pacientes con enfermedad coronaria. En otros estudios realizados en pacientes con antecedentes de enfermedad vascular no sólo se describe la asociación negativa entre los niveles de homocisteína con los de ácido fólico, sino también con los de vitamina B12 (25, 29, 162,163). Esta última asociación no se encontró en el presente estudio.

Por otra parte, en nuestro estudio se observó un aumento estadísticamente significativo de pacientes con preeclampsia en el grupo de gestantes que no habían recibido tratamiento con ácido fólico en el tercer trimestre. Y a la inversa, entre las gestantes que fueron tratadas con ácido fólico en esta etapa de la gestación, menos de la mitad desarrollaron preeclampsia. Es decir, que el 80% de las pacientes con preeclampsia no recibieron tratamiento con ácido fólico.

Al estudiar las pacientes con preeclampsia que no habían sido tratadas con ácido fólico, se objetivó que la gran mayoría (92,5%) tenía hiperhomocisteinemia. Esto hace presuponer que el tratamiento con ácido fólico durante el tercer trimestre de gestación podría disminuir los niveles de homocisteína y con ello el desarrollo de preeclampsia. Sin embargo, diez pacientes que se trataron con ácido fólico desarrollaron preeclampsia y once tratadas con ácido fólico presentaron hiperhomocisteinemia. Ante estos resultados, habría que pensar que, además del déficit nutricional de ácido fólico, también deben estar implicados en la preeclampsia y la hiperhomocisteinemia otras variables como factores genéticos u otros déficits vitamínicos como la vitamina B6. En nuestro estudio no se objetivó deficiencia de

vitamina B12 entre las gestantes, aunque no pudo realizarse la determinación de la vitamina B6.

Aunque los tratamientos farmacológicos como los antifolatos (metotrexate, fenotrazinas, antidepresivos tricíclicos o isoniazidas) y los anticonvulsivantes también pueden elevar los niveles de homocisteína (164), ninguna de las gestantes de nuestro estudio había recibido estos fármacos.

Leeda et al (157) estudiaron el efecto del suplemento con ácido fólico y vitamina B6 en 14 pacientes con historia de preeclampsia o CIR en el embarazo previo, y con hiperhomocisteinemia diagnosticada en el puerperio de dichas gestaciones. De las 14 pacientes estudiadas, todas ellas tratadas con 5 mg de ácido fólico y 100 mg de vitamina B6 diarios durante todo el embarazo, 7 desarrollaron preeclampsia y a ninguna de ellas se le diagnosticó hiperhomocisteinemia. Las pacientes que volvieron a desarrollar preeclampsia (50%), podrían tener un cierto grado de daño vascular irreversible causado en la anterior gestación. De este estudio se desprende además que la hiperhomocisteinemia puede corregirse tratándose con la combinación de ácido fólico y vitamina B6 (piridoxina), hecho que también han puesto de manifiesto otros estudios previos (164, 165). Los niveles de homocisteína plasmáticas están inversamente relacionados con la ingestión y los niveles plasmáticos de vitamina B6, vitamina B12 y ácido fólico (166-168). Cuando las concentraciones de ácido fólico están ligeramente disminuidas, sin llegar a producir alteraciones hematológicas, la probabilidad de desarrollar hiperhomocisteinemia es muy alta, y en el embarazo es conocida la existencia de una disminución de los niveles de ácido fólico junto con los de vitamina B12 (164, 169). Según algunos estudios publicados, con la administración única de ácido fólico, los niveles de homocisteína disminuyen hasta un 40% (170-172). De acuerdo con la Food and Drug Administration estadounidense, tanto el ácido fólico como la vitamina B6 pertenecen a

la categoría de riesgo A (fármacos en los que no se han descrito efectos sobre la gestante ni el feto), por lo que su administración durante la gestación estaría permitida desde el primer trimestre hasta el momento del parto (173, 174).

Por otra parte, estudios actuales han demostrado que la hiperhomocisteinemia no se corrige con ácido fólico cuando existe déficit de la CBS, aunque si es efectivo cuando está implicada la MTHFR, enzima folato dependiente en la ruta de la remetilación (175)

Recientemente se han estudiado los niveles de homocisteína en niños con edades comprendidas entre 13 y 14 años, demostrándose un aumento de los mismos en niños con déficit polivitamínico, y niveles menores de homocisteína cuando eran más altos los de ácido fólico y vitamina B12 (176). Los niños con hiperhomocisteinemia se encuentran en un nivel potencialmente alto de desarrollar enfermedades cardiovasculares en el futuro (176) Queda aún por determinar los niveles de homocisteína en fetos de madres con hiperhomocisteinemia durante el tercer trimestre de gestación, y cómo la hiperhomocisteinemia puede afectar al neonato a largo o corto plazo.

IX.-CONCLUSIONES

IX. CONCLUSIONES

- 1.- Los niveles plasmáticos de homocisteína están elevados significativamente en gestantes con preeclampsia en comparación con gestantes sanas durante el tercer trimestre de gestación.
- 2.- La prevalencia de hiperhomocisteinemia es significativamente mayor en pacientes con preeclampsia respecto al grupo control.
- 3.- No existe relación entre la gravedad de la preeclampsia y los niveles de homocisteína.
- 4.- Los niveles de ácido fólico intraeritrocitario están disminuidos de forma estadísticamente significativa en pacientes con preeclampsia respecto a gestantes sanas durante el tercer trimestre de gestación.
- 5.- Existe una correlación inversa entre los niveles de ácido fólico intraeritrocitario y los niveles plasmáticos de homocisteína tanto en las pacientes con preeclampsia como en las gestantes sanas.
- 6.- Las gestantes que no son tratadas con ácido fólico durante el tercer trimestre del embarazo desarrollan más preeclampsia que las que si reciben tratamiento.

7.- La prevalencia de hiperhomocisteinemia es más elevada en gestantes no tratadas con ácido fólico durante el tercer trimestre del embarazo

8.- En las pacientes que hayan padecido preeclampsia, sería conveniente que en el siguiente embarazo se trataran con ácido fólico a lo largo de toda la gestación.

X.-BIBLIOGRAFÍA

X. BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Mudd SH, Levy HL, Skovy F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic molecular bases of inherited diseases. New York, NY: Mc Graw-Hill Inc 1995: 1279-1327.
- 2.- Rosenblatt DS. Inherited disorders of folate transport and metabolism. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D; eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease New York, NY: Mc Graw-Hill Inc; 1995: 3111-3128.
- 3.- Fenton AW, Rosenberg LE. Inherited disorders of cobalamin transport and metabolism. En: Scriver CR, Beaudeth AL, Sly WS, Valle D eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York, NY: Mc Graw-Hill Inc; 1995: 3129-3149
- 4.- Córdoba Porras A, Blanco Vace F, González -Sastre F. Bases moleculares de hiperhomocisteinemia. Química Clínica 1998; 17: 5-18.
- 5.- Chen LH, Liu ML, Hwang HY, Chen LS, Korenberg J, Shane B. Human methionine synthase. CDNA cloning, gene localization and expresion. J Biol Chem 1997; 272: 3268-3634.

- 6.- Goyette P, Summer JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, Rozen R. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature Genet* 1994; 7: 195-200.
- 7.- Garrow TA. Purification, kinetics properties and cDNA cloning of mammalian betaine-homocysteine methyltransferase. *J Biol* 1996; 271: 22831-22838.
- 8.- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779.
- 9.- González Y, Souto JC, Mateo J, Córdoba Porras A, Blanco-Vaca F, Fontcuberta J. Moderate hyperhomocysteinemia is a high prevalent defect in Spanish patients with venous thromboembolic disease. *Haematológica* 1999; 5: 135-139.
- 10.- Chico A, Pérez A, Córdoba Porras A, Arcelús A, Carreras G, De Leiva A, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus. A new link between diabetic nephropathy and cardiovascular disease? *Diabetologica* 1998; 41: 684-693.

- 11.- Córdoba Porras A. Hiperhomocisteinemia en pacientes con accidente vascular cerebral: prevalencia, determinantes y asociaciones de interés clínico-biológico, papel del polimorfismo de la enzima metileno-tetrahidrofolato reductasa y tratamiento. Tesis Doctoral (Directores: F. Blanco Vaca y F. González Lastre). Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 1998.
- 12.- Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet* 1995; 10: 111-113.
- 13.- Folsom AR, Nieto FJ, Mc Govern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis CE. Prospective study of coronary artery disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins. The Atherosclerosis risk in communities (ARIC). *Circulation* 1998; 98: 204-210.
- 14.- Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW, Robinson K, Dennis VW. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998; 97: 138-141.
- 15.- Vychytil A, Fodinger M, Wolf G, Enzenberger B, Auinger M, Prischl F, Buxbaum M, Wiesholzer M, Mannhalter C, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1998; 53: 1775-1782.

- 16.- Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2554-2558.
- 17.- Bostom A, Brosnan JT, Hall B, Nadeau MR, Selhub J. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. *Atherosclerosis* 1995; 116: 59-62.
- 18.- Van Guldencoe C, Donker JM, Cornelis J, Teerlink T, De Meer K, Stehouwer CDA. No net renal extraction of homocysteine in fasting humans. *Kidney Int* 1998; 54: 166-169.
- 19.- Carson NAJ, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in North Ireland. *Arch Dis Child* 1962; 37: 505-513.
- 20.- Mudd HS, Finkelstein JD, Imrevere F, Laster L. Homocystinuria: an enzymatic defect. *Science* 1964; 143: 1443-1445.
- 21.- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 11-12.
- 22.- Mudd SH, Uhlendorf BW, Freeman JM, Finkelstein JD, Shih VE. Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 46: 905-912.

- 23.- McCully KS, Wilson RB. Homocystinuria theory of arterosclerosis. *Atherosclerosis* 1975; 22: 215-227.
- 24.- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057.
- 25.- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Veland DH, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.
- 26.- Alfthan G, Aro A, Gey F. Plasma homocysteine and cardiovascular disease mortality. *Lancet* 1997; 349: 347.
- 27.- Refsum H, Veland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Ann Rev Med* 1998; 49: 31-61.
- 28.- Omenn GS, Beresford SAA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease: B vitamins and homocysteine. *Circulation* 1998; 97: 421-424.
- 29.- Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM. Homocysteine and ischemic heart disease. *Arch Int Med* 1998; 158: 862-867.

- 30.- Laghi PF, Frigeno C, Di Perti T. Plasma homocysteine in ischemic stroke. *Stroke* 1995; 26: 2374-2375.
- 31.- Perry U, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395-1398.
- 32.- Evers S, Koch HG, Gottemeyer KH, Lange B, Deufel T, Ringelstein EB. Features, symptoms B and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol* 1997; 54: 1276-1282.
- 33.- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted action Project. *JAMA* 1997; 27: 1775-1781.
- 34.- Vila N, Deulofeu R, Chamorro A, Piera C. Concentraciones plasmáticas de homocisteína en pacientes con infarto cerebral isquémico. *Med Clin* 1998; 110: 605-608.
- 35.- Lochrer EMT, August ChP, Haefeli WE, Jordan PP, Ritz R, Fowler B. Low whole-blood S-adenosylmethionine and correlation between 5-methyltetrahydrofolate and homocysteine in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 727-733.

- 36.- Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, et al
Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: reaction with vitamins B6, B12
and folate. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 849-859.
- 37.- Verhoef P, Kok FJ, Kryssen DACH, Schouten EG, Witteman JCM, Gubbée DE, Veland
PM, Refsum H. Plasma total homocysteine, B vitamins and risk of coronary atherosclerosis.
Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 989-995.
- 38.- Gibelin P, Candito M, Houenassi M, Van Obberghen E, Morand P, Baudouy M. Blood
levels of homocysteine in patients under 55 years of age with acute coronary insufficiency.
Presse Med 1997; 26: 1425-1428.
- 39.- Diekers J, Bissé E, nauck H, Orth H, Mayer H, Luley C, Wieland H. The diagnostic value
of serum homocysteine concentration as a risk factor for coronary artery disease. *Clin Chem
Lab Med* 1998; 36: 453-457.
- 40.- Taylor LM, Defrong RD, Harris EJ, Parter JM. The association of elevated plasma
homocyst(e)ine with progressive of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vas Surg* 1991;
13: 128-136.
- 41.- Molgaard J, Malinow MR, Lassvik C, Holm AC, Upsen B, Olsson AG.
Hyperhomocyst(e)inemia. *J Intern Med* 1992; 231: 273-279.

- 42.- Mansoor MA, Bergmark C, Svardal A, Lanning PE, Ueland PM. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other amino thiols in patients with early-onset peripheral vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 232-240.
- 43.- Córdoba Porras A, Sanchez Quesada JL, Gonzalez-Sastre F, Ordoñez-Llanos J, Blanco Vace F. Susceptibility to oxidation of plasma low and high-density lipoproteins to oxidation in patients with severe hyperhomocysteinemia. *J Mol Med* 1996; 74: 771-776.
- 44.- Fermo I, D'Angelo S, Paroni R, Mazzola G, Calori G, D'Angelo A. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995; 123: 747-753.
- 45.- Deulofeu R, Giralt M, Aibar C, Bauchet C, Varela-Moreiras G, Casals F, Chamorro A, Vila N, Díaz-Cremades J, Ballesta AM. Determinación de homocisteína en plasma por cromatografía líquida de alta resolución. Aplicación del estudio de enfermos afectos de enfermedad. *Química Clínica* 1996; 15: 77-84.
- 46.- Naruszewicz M, Mirkiewicz E, Olszewski AJ, McCully KS. Thiolation of low-density lipoproteins by homocysteine thiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. *Nutr, Metabol Cardiovasc Dis* 1994; 4: 70-77.
- 47.- Harker LA, Ross R, Scheter SJ, Scott CR. Homocysteine-induced arteriosclerosis: the role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58: 731-734.

48.- McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nature Med* 1996; 2: 386-389.

49.- Córdoba Porras A, Blanco-Vaca F, González-Sastre F. Hiperhomocisteinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogénesis de la arteriosclerosis y la trombosis y tratamiento. *Med Clin* 1997; 109: 715-725.

50.- Blanco F, Córdoba A. Causas de hiperhomocisteinemia. En : ENE Ediciones. Concentración plasmática de homocisteína y enfermedad cardiovascular. Madrid. Abbot Científica, S.A; 1998. p 25-28.

51.- Zuspan FP. The hypertensive disorders of pregnancy: Report of WHO study group. Technical report series. 758; Ginebra; WHO, 1987.

52.- Consensus Report. National high blood pressure education program working group report on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1689-1712.

53.- Santamaría Lozano R, Martín Caballero C, Verdú Martín I. Trastornos hipertensivos del embarazo. En: *Protocolos asistenciales en Ginecología y Obstetricia. S.E.G.O. Tomo I. Obstetricia* 1994; 16: 103-107.

54.- Grupo de Consenso sobre Estados Hipertensivos del Embarazo. Documentos de Consenso de La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. 1998; 3: 45-78.

- 55.- Mc Cartney CP, Schumacher GFB, Spargo BH. Serum patients with toxemic glomerular lesion. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 111: 580-584.
- 56.- National High Blood Pressure Education Pregnancy Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy . *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1691-1694.
- 57.- Redman CWG, Jefferies M. Revised definition of preeclampsia. *Lancet* 1988; 1: 809-811.
- 58.- Roberts JM, Rodman CWG. Preeclampsia: more than pregnancy- induced hypertension. *Lancet* 1993; 34: 1447-1451.
- 59.- Perry JJ, Beevers DG. The definition of preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 587-591.
- 60.- Brown MA, Buddle HL. The importance of nonproteinuria hypertension in pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 1995; 14: 57-65.
- 61.- Cunningham FG, Leveno KJ. Management of pregnancy induced hypertension. En Rubin PC (ed). *Handbook of Hypertension. Vol X. Hypertension in Pregnancy*. Amsterdam Elsevier science 1988. p 290.
- 62.- Chelsey LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendents of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol* 1986; 45: 898-900.

- 63.- Kilpatrick DC, Liston WA, Gibson F, Livingstone J. Association between susceptibility to pre-eclampsia within families and HLA DR4. *Lancet* 1989; 2: 1063-1066.
- 64.- Hoff C, Stevens RG, Medentall H, Peterson RDA, Spinato JA. Association between risk for pre-eclampsia and HLA DR4. *Lancet* 1990; 335: 660-664.
- 65.- Hayward C, Livingstone J, Halloway S, Liston WA, Brock DJH. An exclusion map for pre-eclampsia: Assuming autosomal recessive inheritance. *Am J Hum Genet* 1992; 50: 749-752.
- 66.- Cunningham FG, Lowe TW. Cardiovascular diseases complicating pregnancy. En: *Williams Obstetrics*, Norwalk CT. Appleton and Lange. 1996, p 761-763.
- 67.- Cotton DB, Lee W, Muhta JC, Dorman KF. Cardiovascular alterations in severe pregnancy induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 523-525.
- 68.- Easterling TR, Benedetti TJ, Carlson KL, Watts DH. Measurement of cardiac output in pregnancy by thermodilution and impedance techniques. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96: 67-69.
- 69.- Hankins GDV, Wendel GW Jr, Cunningham FG, Leveno KJ. Longitudinal evaluation of hemodynamic changes in eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 506-508.

- 70.- Groenendijk R, Trimborn JBM, Wallenburg HCS. Hemodynamic measurements in preeclampsia: Preliminary observations. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 232-234.
- 71.- Williams DJ, De Swiet M. The pathophysiology of preeclampsia. *Intensive Care Med* 1997; 23: 620-629.
- 72.- Pritchard JA, Cunningham FG, Pritchard SA. The Parkland Memorial Hospital protocol for treatment of eclampsia: evaluation of 245 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 951-956.
- 73.- Lee W, Gonik B, Cotton DB. Urinary diagnostic indices in preeclampsia-associated oliguria: correlation with the invasive hemodynamic monitoring. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 100-104.
- 74.- Levine AB, Lockwood CJ, Chitkara U, Berkowitz RL. Maternal renal artery doppler velocimetry in normotensive pregnancies and pregnancies complicated by hypertensive disorders. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 264-267.
- 75.- Taubfield PA, Ales KL, Resnick LM, Druzin ML, Gertner JM, Laragh JH. Hypocalcemia in preeclampsia. *N Engl J Med* 1987; 316: 715-717.
- 76.- Sheehan HL. Pathological lesions in the hypertensive toxemias of pregnancy. In Hammond J, Browne FJ, Wolstenholme GEW (eds): *Toxemias of Pregnancy, Human and Veterinary*. Philadelphia, Blakiston 1950, p 567.

- 77.- Spargo B, McCartney CP, Winemiller R. Glomerular capillary endotheliosis in toxemia of pregnancy. *Arch Pathol* 1959; 68: 593-595.
- 78.- Sibai BM, Villar MD, Mabie BC. Acute renal failure in hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 777-799.
- 79.- Brown MA, Gallery EDM, Ross HR, Esber RP. Sodium excretion in normal and hypertensive pregnancy: A prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 297-301.
- 80.- Katz VL, Thorp JM Jr, Rozas L, Bowes WA Jr. The natural history of thrombocytopenia associated with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1142-1145.
- 81.- Leduc L, Wheeler JM, Kirshan B, Mitchell P, Cotton DB. Coagulation profile in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 14-17.
- 82.- Kilby MD, Broughton F, Cockbill S, Heptinstall S, Symonds EM. A cross-sectional study of basal platelet intracellular free calcium concentration in normotensive and hypertensive primigravid pregnancies. *Clin Sci* 1990; 78: 75-77.
- 83.- Pritchard JA, Cunningham FG, Pritchard SA, Mason RA. How often does maternal preeclampsia-eclampsia incite thrombocytopenia in the fetus? *Obstet Gynecol* 1987; 69: 292-295.

- 84.- Wilcox GR, Trudinger BJ, Cook CM, Wilcox WR, Connely AJ. Reduced fetal platelet counts in pregnancies with abnormal Doppler umbilical flow waveforms. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 639-641.
- 85.- Miller KW, Keith JC. Erythrocyte morphologic features and serum chemistry studies in ovine pregnancy-induced hypertension treated with thromboxane synthetase inhibitors. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 1241-1244.
- 86.- Kitzmiller JL, Lang JE, Yelonosky PF, Lucas WE. Hematologic assays in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 118: 362-366.
- 87.- Saleh AA, Bottoms SF, Welch RA, Ali AM, Mariona FG, Mammen EF. Preeclampsia, delivery and the hemostatic system. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 331-334.
- 88.- Taylor RN, Casal DC, Jones LA, Varma M, Martin JN Jr, Roberts JM. Selective effects of preeclamptic sera on human endothelial cell procoagulant protein expression. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1705-1709.
- 89.- Sibai BM, Ramadin MK, Chari RS. Pregnancies complicated by HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets): subsequent pregnancy outcome and long term prognosis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 171: 125-129.
- 90.- Manas KJ, Welsh JD, Rankin RA, Miller DD. Hepatic hemorrhage without rupture in preeclampsia. *N Engl J Med* 1985; 312:426-428.

- 91.- Smith LG Jr, Moise KJ Jr, Dildy GA, Carpenter RJ Jr. Spontaneous rupture of liver during pregnancy: current therapy. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 171-174.
- 92.- Harms K, Rath W, Harting E. Maternal hemolysis elevated liver enzymes, low platelet count and neonatal outcome. *Am J Perinatol* 1995; 12: 1-6.
- 93.- Shorf B, Shorf M, Gonen R. Eclampsia. En: Disease of sistemic neurological manifestations. *Handbook of Clinical Neurology*. Advisory Board. Vinken and Bryn (dirs). Elsevier/North Holland. Biomedical Press. Amsterdam 1980; p 39-537.
- 94.- Brown CEL, Cunningham FG, Pritchard JA. Convulsions in hypertensive, proteinuria, primiparas more than 24 hours after delivery: Eclampsia or some other cause? *J Reprod Med* 1987; 32: 499-505.
- 95.- Nalliah S, Thavarashah AS. Transient blindness in pregnancy induced hypertension. *Int J Gynaecol Obstet* 1989; 29: 249-252.
- 96.- Herzog TJ, Angel OH, Karram MM, Evertson LR. Use of magnetic resonance imaging in the diagnosis of cortical blindness in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 980-982.
- 97.- Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia 1998; 16: 5-15.

98.- Shembrey MA, Noble AD. An instructive case of abdominal pregnancy. *Aust NZJ J Obstet Gynaecol* 1995; 35: 220-221.

99.- Page EW. The relation between hydatid moles, relative ischemia of the gravid uterus, and the placental origin of eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1939; 37: 291-293.

100.- Labarrere CA, Althobe OH. Primary chronic abortion, preeclampsia, idiopathic intrauterine growth retardation, hydatidiform mole and chorioncarcinoma: a unifying concept. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1986; 10: 156-157.

101.- Roberts JM. Pregnancy related hypertension. In : Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal fetal medicine: Principles and practice*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994, p 568.

102.- Brossens I. Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension. *Clin Obstet Gynaecol* 1977; 4: 573-593.

103.- Pijnenberg R, Dixon G, Robertson WB, Brossens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy hypertension. *Clin Obstet Gynaecol* 1980; 1: 3-19

104.- Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, Mc Master M, Bass K, Chun SH, Fisher SJ. Human cytotrophoblast differentiation/ invasion in abnormal in preeclampsia. *Am J Pathol* 1997; 151: 1809.

- 105.- Kovatz S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMarx R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990; 248: 220-223.
- 106.- Haeger M, Unander M, Norder-Hansson B, Tylman M, Bengtsson A. Complement, neutrophil and macrophage activation in women with severe preeclampsia and the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets count. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 19-21.
- 107.- Bellart J, Gilabert R, Aguilar E, Javé H, Piera V, Miralles RM. Morfologia del endotelio umbilical en gestaciones normales y complicadas con preeclampsia. *Prog Obstet Ginecol* 1999; 42: 179-188.
- 108.- Shanklin DR, Sibai BH. Ultrastructural aspects of preeclampsia. I. Placental bed and uterine boundary vessels. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 735-741.
- 109.- Shanklin DR, Sibai BH. Ultrastructural aspects of preeclampsia II. Mitochondrial changes. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 943-953.
- 110.- Barton JR, Hiett AK, O'Connor WN, Nissen SE, Greene JW. Endomyocardial ultrastructural findings in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 389-391.
- 111.- Rajkovic A, Catalano P, Malinow R. Elevated homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 168-171.

112.- Davidge S, Stranko C, Roberts J. Urine but not plasma nitric oxide metabolites are decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1008-1013.

113.- Fitzgerald DJ, Entmann SS, Mullary K, Fitzgerald GA. Decreased prostacyclin biosynthesis preceding the clinical manifestation of pregnancy-induced hypertension. *Circulation* 1987; 75: 956-963.

114.- Redman CWG, Denson KWE, Beilin LJ. Factor VIII consumption in preeclampsia. *Lancet* 1977; 2: 1249.

115.- Taylor RN, Varma M, Teng NNH, Roberts JM. Women with preeclampsia have higher plasma endothelin levels than women with normal pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 1675-1677.

116.- Walsh SW. Prostaglandins in pregnancy. *Reproduct Endocrinol Infertil Genet* 1989; 5: 1-21.

117.- Lyall F, Greer IA, Macara LM, Walker JJ, Kingdom JCP. The cell adhesion molecule, VCAM-1, is selectively elevated in serum in pre-eclampsia. Does this indicate the mechanism of leukocyte activation? *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 485-487.

- 118.- Taylor RN, Crombleholme WR, Friedman SA, Jones LA, Casal DC, Roberts JM. High plasma cellular fibronectin levels correlate with biochemical and clinical features of preeclampsia but cannot be attributed to hypertension alone. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 895-901.
- 119.- Taylor RN, Heilbron DC, Roberts JM. Growth factor activity in the blood of women in whom preeclampsia develops is elevated from early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 163: 1839-1844.
- 120.- Hutt R, Ogunniyi SO, Sullivan HF, Elder MG. Increased platelets volume and aggregation precede the onset of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1994; 22:146-149.
- 121.- Hsu CD, Iriye B, Johnson TRB, Witter FR, Hong SF, Chan DW. Elevated circulating thrombomodulin in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 148-149.
- 122.- Lockwood C, Peters J. Increased plasma levels of ED1+ cellular fibronectin precede the clinical signs of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 358-362.
- 123.- Musci TJ, Roberts JM, Rodgers GM, Taylor RN. Mitogenic activity is increased in the sera of preeclamptic women before delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159:1446-1451.
- 124.- Roberts JM, Edep ME, Goldfien A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specially activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: Morphological and biochemical evidence. *Am Reproduct Immunol* 1992; 27: 101-108.

- 125.- Mc Cartney CP, Spargo BH, Lannetz AB, Lefebvre Y, Newton RE. Renal structure and function in pregnant patients with acute hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1964; 90:579-590.
- 126.- Dadak C, Ulrich W, Sinzinger H. Morphological changes in the umbilical arteries of babies born to preeclamptic mothers: an ultrastructural study. *Placenta* 1984; 5: 419-426
- 127.- Shanklin DR, Sibai BM. Ultrastructural aspects of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 943-953.
- 128.- Rosing U, Samsioe G, Olund A, Johansson B, Kallner A. Serum levels of apolipoprotein A-I, A-II and HDL-cholesterol in second half of normal pregnancy and in pregnancy complicated by pre-eclampsia. *Hormone Metabol Res* 1989; 21: 376-382.
- 129.- Hubel CA, Mclaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decreased within 48 hours post partum. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 975-982.
- 130.- Vangall LF, Zhang AG, Steijaert MM, Deleuw IH. Human obesity: From lipid abnormalities to lipid oxidation. *Int J Obesity* 1995; 19: S21-S26.

- 131.- LaRosa JC. Women, lipoproteins, and cardiovascular disease risk [Review] *Int Fertil* 1992; 2: 63-71.
- 132.- Gatacós E, Casals E, Deu Lajeu P, Cararach V, Alonso PL, Fortuny A. Lipid peroxide and vitamin E patterns in women with different types of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 1230-1234.
- 133.- Lefevre G, Berkane N, Uzan S, Etienne J. Preeclampsia and oxygenated free radicals. *Ann Biol Clin Paris* 1997; 55: 443-450.
- 134.- Arbogast BW, Leaper SC, Merri RD, Olive KE, Taylor RN. Which plasma factors bring about disturbance of endothelial function in preeclampsia ? *Lancet* 1994; 343: 340-341
- 135.- Cooper DW, Brennecke SP, Wilton AN. Genetics in preeclampsia. *Hypertens Preg* 1993; 12: 1-5.
- 136.- Winn HN, Todd HM, Amon E, al Malt A, Molnar M, Hertelendy F. Effects of serum from preeclamptic women on prostacyclin production by human endothelial cells. *J Matern Fetal Med* 1997; 6: 249-253.
- 137.- Wang Y, Walsh SW, Guo J, Zhang J. The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclampsia is associated with an imbalance between lipid peroxides and vitamin E in maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1695-1699.

- 138.- Chua S, Wilkins T, Sargent L, Rodman C. Trophoblast deportation in pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 973-979.
- 139.- Witling AG, Sibai BM. Hypertension in pregnancy: current concepts of preeclampsia. *Annu Rev Med* 1997; 48: 119-127.
- 140.- Zamorski MA, Geen LA. Preeclampsia and hypertensive disorders of pregnancy. *Am Fam Physician* 1996; 53: 1595-1610.
- 141.- Misra DP. The effect of pregnancy induced hypertension on fetal growth. A review of literature. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1996; 10: 244-263.
- 142.- Malinow MR, Kang SS, Taylor LM. Prevalence of hyperhomocysteinemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989; 79: 1180-1188.
- 143.- Van de Berg M, Franken DG, Boers GHJ. Combined vitamin B6 plus folic acid therapy in young patients with arteriosclerosis and hiperhomocysteinemia. *J Vasc Surg* 1994; 20: 933-940.
- 144.- Clarke R, Daly L, Robinson K. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-1155.

- 145.- Mills JL, Mc Partlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG, Scott JM. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995; 345: 149-151.
- 146.- Van der Put NMJ, Steegers-Theunissen RPM, Frosst P, Trijbels FJM, Eskes TKAB, van den Heuvel LD, Mariman ECM, den Meyer M, Rozen R, Blom HJ. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet* 1995; 346: 1070-1071.
- 147.- Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Trijbels JFM. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor for neural tube defects. *Metabolism* 1994; 43: 1475-1486
- 148.- Mills JL, Scott JM, Kirke PN, Mc Partlin JM, Conley MR, Weir DG, Molloy AM, Lee YJ. Homocysteine and neural tube defects. 1996; 126: 756 -760.
- 149.- Wouters MGAJ, Boers GHJ, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in woman with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993; 60: 820-825.
- 150.- Goddijn-Wessel TAW, Wouters HGAJ, Molen EF, Spuijbroek MDEH, Steegers-Theunissen RPM, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 66: 23-29.86.

- 151.- Steegers-theunissen RP, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent spontaneous abortion or abruptio placentae. *Lancet* 1992; 339: 1122-1123.
- 152.- Quere I, Bellet H, Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 1998; 69: 152-154.
- 153.- Owen EP, Human L, Carolissen AA, Harley EH, Odendaal HJ. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for abruptio placentae. *J Inherit Metab Dis* 1997; 20: 359-362.
- 154.- Dekker G, de Vries JJ, Doelitzsch PM, Huijgens PC, Blomberg BM, Jakobs C, von Geijn HP. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1042-1048.
- 155.- de Vries JJP, Dekker GA, Huijgens PC, Jakobs C, Blomberg BM, von Geijn HP. Hyperhomocysteinemia and protein S deficiency in complicated pregnancies. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 1248-1254.
- 156.- Sheppard BL, Bonner J. The ultrastructure of the arterial supply of the human placenta in pregnancy complicated by fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol* 1976; 83: 948-959.

- 157.- Leeda M, Riyazi N, de Vries J, Jakobs C, Van Geij H, Dekker G. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 135-139.
- 158.- Burke G, Robinson K, Refsum H, Stuart B, Drom J, Graham C. Intrauterine growth retardation, perinatal death and maternal homocysteine levels. *N Engl J Med* 1992; 326: 69-70.
- 159.- Anderson A, Hultberg B, Brattstrom L, Isaksson A. Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 377-379.
- 160.- Kang S, Wong PWK, Zhou J et al. Total homocysteine in plasma and amniotic fluid of pregnant woman. *Metabolism* 1986; 35: 889-891.
- 161.- Fernández- Miranda C, Aranda JL, Gómez González P, Díaz-Rubio P, Estenoz J, Gómez A. La hiperhomocisteinemia es frecuente en pacientes con enfermedad caria. Estudio de 202 enfermos. *Med Clin* 1999; 113: 407-410.
- 162.- Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, Davignon J, Latour Y, Genest J. Homocysteine and coronary artery disease in french canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, piridoxal phosphate and folate. *Am J Cardiol* 1995; 75: 1107-1111.

- 163.- Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinations of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994; 236: 633-641.
- 164.- Mudd SH, Skovby F, Levy HL, et al. The natural history of homocysteinuria due to cystathionine-synthase deficiency. *Am J Hum genet* 1985; 37: 1-31.
- 165.- Van de Berg M, Franken DG, Boers GHJ et al. Combined vitamin B6 plus folic therapy in young patients with arteriosclerosis and hyperhomocysteinemia. *J Vasc Surg* 1994; 20: 933-940.
- 166.- Robinson K, Mayer EL, Miller DP. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. *Circulation* 1995; 92: 2825-2830.
- 167.- Selhub J, Jacques PF, Wilson P, Rush O, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-2698.
- 168.- Ubbink JB. Vitamin nutrition status and homocysteine. *Nutr Rev* 1994; 52: 383-387.
- 169.- Bartels PC, Helleman PW, Soons JBJ. Investigations on red cell size-distribution histograms related to folate, vitamin B12 and iron state in the course of pregnancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1989; 49: 763-771.

- 170.- Homocystein Lowering Trialist's Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements. BMJ 1998; 316: 894-898
- 171.- Brattstrom L. Vitamins as homocysteine-lowering agents. J Nutr 1996; 126: 1276-1280.
- 172.- Fernández-Miranda C, Gómez P, Díaz-Rubio P, Estenoz J, Camillo JL, Andrés A, Morales JM. Plasma homocysteine levels in renal transplanted patients on cyclosporine or tacrolimus therapy. Effect of treatment with folic acid. Clin Transplant 2000; 14: 110-114
- 173.- Briggs GC, Freeman RK, Yaffe SJ. Drugs in pregnancy and lactation. En: Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 378-392.
- 174.- Briggs GC, Freeman RK, Yaffe SJ. Drugs in pregnancy and lactation. En: Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 747-754.
- 175.- Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase locus. Nat Genet 1995; 10: 111-113.
- 176.- Osganian SK, Stampfer MJ, Spiegelman D, Rimm E, Cutler JA, Feldman HA, et al. Distribution of and factors associated with serum homocysteine levels in children. JAMA 1999; 1: 1189-1196.

